# MEMORIAS

DO

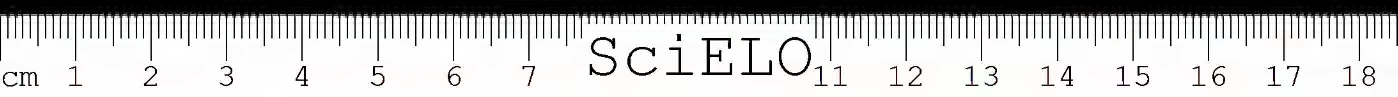
# INSTITUTO BUTANTAN

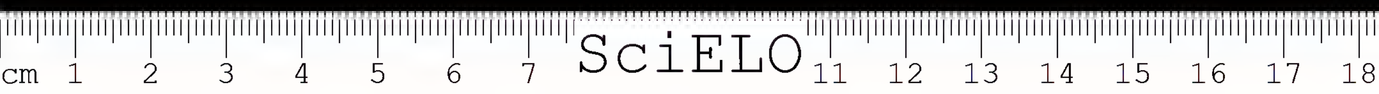
## 1932

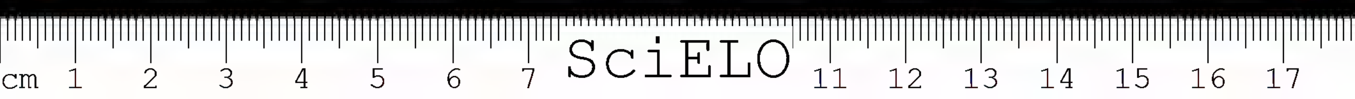
TOMO VII

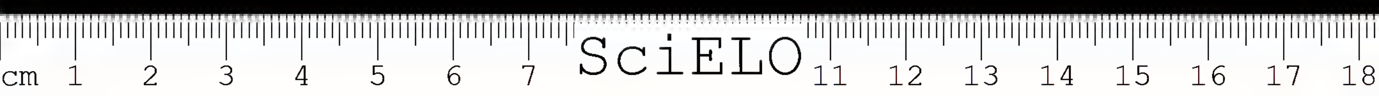


São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65




cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17 18


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17 18

# MEMORIAS

DO

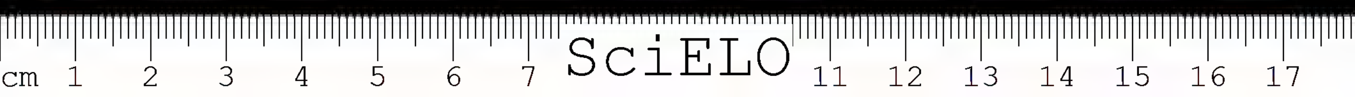
# INSTITUTO BUTANTAN

1932

TOMO VII



São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65



# INDICE

# NOTICIARIO

Apesar da agitação que dominou no país no terceiro trimestre de 1932, durante o qual São Paulo esteve separado de qualquer contacto facil com o resto do mundo e os technicos do Instituto Butantan com a sua actividade confinada ao preparo de productos biologicos, necessarios á defesa da população civil e das classes em armas, contra as endemias e epidemias que nessas occasiões costumam irromper com maior vigor, a producção scientifica do Instituto continuou a avolumar-se, permittindo a publicação, neste tomo VII das Memorias, de grande numero de trabalhos, de feição especulativa ou pratica, como contribuição de suas Secções de Virus e Virustherapia; Ophiologia e Zoologia Medica; Protozoologia e Parasitologia; Bacteriologia; Immunologia e Sorotherapia.

Não obstante o aggravamento da crise financeira ligada directamente a essa agitação politica, a Secção de Physico-chimica continuou a installar-se, tendo iniciado nova serie de pesquisas cujos resultados são tambem aqui publicados.

---

Durante o anno a Redacção das "Memorias" recebeu para publicação, do Office International de Chimie, a seguinte circular sobre a *organização internacional da documentação chimica*:

"As questões relativas á documentação têm adquirido ultimamente cada vez maior importancia. Os documentos scientificos e technicos multiplicam-se em todos os paises em tal numero que se torna cada vez mais difficil tirar-se delles a parte util á intenção dos pesquisadores. Como muitas instituições se occupam, de um modo permanente, do registo, classificação e divulgação dessa documentação, tornou-se necessaria a coordenação de suas respectivas actividades com um caracter internacional, para permittir-lhes o desempenho do papel.

De referencia ao dominio da chimica, deu-se um passo á frente em 1932, no plano scientifico e technico, com a criação do "Office International de Chimie", por meio de convenção internacional e com séde em Paris. Seu primeiro acto consistiu na convocação de uma Conferencia de Peritos, que reunisse as seguintes personalidades: F. Donker Duyvis, membro do "Conseil des Brevets", Haya; P. Dutoit, professor na "Université de Lausanne"; F. Haber, director do "Kaiser Wilhelm-Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie", Berlim; E. Hauser, membro da "Academia de Ciencias", Madrid; Ch. Marie, secretario geral do "Comité international des Tables Annuelles de Constantes", Paris; N. Parravano, academico da Italia, presidente do "Comitato Nazionale di Chimica", Roma; G. Peny, presidente da "Fédération des Industries Chimiques de Belgique", Bruxellas; J. C. Philip, professor no "Imperial College of Science and Technology", Londres.

Dos trabalhos dessa Conferencia de Peritos resultou a adopção de certo numero de recommendações que fixam as 3 seguintes finalidades principaes do "Office":

I. — Tornar accessivel a todos os interessados a documentação preexistente accumulada nos diversos centros, depositos e collecções.

II. — Canalizar a documentação chimica em via de producção por meios que facilitem seu registo, conserva e diffusão pelos melhores methodos conhecidos.

III. — Assegurar a coordenação entre a documentação relativa á Chimica e á referente aos outros conhecimentos scientificos, no campo da documentação universal.

Graças a estas diversas actividades, os manuseadores da documentação verão realizar-se no mundo, systematica e progressivamente, uma organização pratica e racional dessa materia, succeptivel de se lhes adaptar, de mais a mais, ás necessidades".

---

Toda correspondencia scientifica, relativa ás "Memorias", deve ser dirigida ao

EDITOR, MEMORIAS INSTITUTO BUTANTAN

Caixa Postal 65

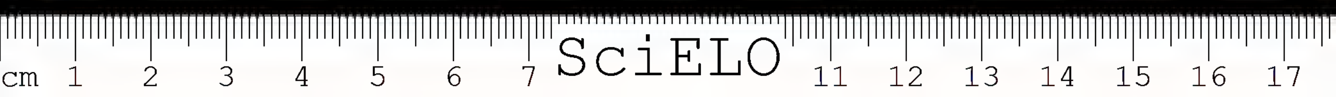
S. PAULO — BRASIL

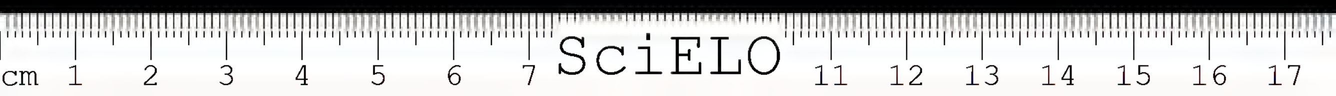
# SOBRE A VISCOSIDADE DOS CORPOS ALBUMINOSOS BICARBONATADOS

POR

D. VON KLOBUSITZKY E C. VON MAGYARY

---




cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

612.398:612.11814

# SOBRE A VISCOSIDADE DOS CORPOS ALBUMINOSOS BICARBONATADOS

POR

D. von KLOBUSITZKY e C. von MAGYARY

Desde as pesquisas basicas de Laqueur e Sackur (1), que procuraram conhecer a influencia de diversas concentrações de soda caustica sobre a viscosidade das caseinas, as mudanças de viscosidade dos colloides hydrophilos, em differentes meios, tornaram-se um estudo especial. Os resultados obtidos até agora, em relação ás albuminas, podem ser resumidos do seguinte modo:

1) A viscosidade é independente do tamanho das particulas colloidaes.

2) A viscosidade eleva-se á medida que cresce a hydratação.

3) A viscosidade diminue, com o augmento da temperatura, mais do que a viscosidade da agua, e essa diminuição não representa uma funcção linear da temperatura.

4) As lixivias em concentrações moderadas elevam a viscosidade.

5) Nas experiencias feitas sobre a acção dos saes neutros na viscosidade, os resultados são diversos, tanto sob o ponto de vista qualitativo, como quantitativo e dependem dos aniões e catiões do sal usado.

6) A viscosidade augmenta com crescentes concentrações dos solutos dos corpos albuminosos.

7) A pseudo-globulina possue uma viscosidade maior do que a seralbumina.

8) O repouso, assim como diversas acções mecanicas (agitação, movimento, etc.), modifica a viscosidade.

— O ponto visado nestas experiencias consistiu em esclarecer de que modo o bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$), como componente que é do plasma do sangue e principalmente dotado de pequena dissociabilidade (sendo tambem sob o ponto de vista physiologico uma substancia extremamente importante), influe na viscosidade dos corpos albuminosos: si se comporta como uma base ou como um sal, e que relação existe entre sua acção e sua crescente dissociação. Nosso fito foi sobretudo chegar o mais depressa possivel á determinação das differenças existentes entre os diversos corpos albuminosos; porisso, fizemos nossas pesqui-

sas com solutos de corpos albuminosos em concentrações iguaes (2 % e 1 %) e com o mesmo conteúdo de bicarbonato (N/10 e N/0,02), variando o grau de dissociação do $NaHCO_3$ de accordo com a elevação de temperatura.

## Material e methodo

Ovalbumina. — Empregámos a clara de 20 ovos que foram cuidadosamente separadas das gemmas e diluidas em volumes iguaes de agua destillada. Sob uma progressiva reducção da resistencia de protecção foram collocadas num apparelho electro-dialysador de Pauli, entre membranas de pergaminho. Em consequencia do phenomeno de camadas de Pauli, dividia-se a solução, na camara do meio do electro-dialysador, em duas partes, das quaes a de cima era pobre em albumina e, portanto, desprezada. Verificámos a conductividade da parte de baixo, que na terminação da electro-dialyse correspondia a $1,20.10^{-5}$ recipr. Ohm. (*). Determinámos pela seccagem, em estufa electrica a 105° C até obtenção do peso constante, a concentração das albuminas assim preparadas, em solutos quasi tão claros quanto a agua. A concentração da ovalbumina era de 2,27%.

Seralbumina e pseudo-globulina. — Cerca de 3 litros de soro desfibrinado de cavallo foram levados a meia saturação com uma solução saturada de $(NH_4)_2SO_4$, deixando-se, depois de bem misturados, durante 24 horas sob toluol, sendo o precipitado separado e filtrado. O precipitado foi em seguida dissolvido na menor quantidade possivel de agua e dialysado num sacco de pergaminho, sob pressão. Ao mesmo processo foi submettida a solução de seralbumina. Depois de 4 ou 5 dias, foram as duas soluções collocadas no filtro de pergaminho e dialysadas até que a conductividade especifica das mesmas não baixasse a menos de $1.10^{-4}$ recipr. Ohm..

A dialyse durou cerca de 5 semanas, sendo então os solutos electro-dialysados e concentrados como a ovalbumina. Com o precipitado, que obtivemos por meia saturação com $(NH_4)_2SO_4$, formou-se um precipitado contendo euglobulina; este foi durante a electrodialyse separado da pseudo-globulina, continuando-se ainda por 2 dias a electro-dialyse do soluto limpo de pseudo-globulina, á qual se havia juntado $(NH_4)_2SO_4$ a 1/3 de saturação e que não demonstrara turvação. A conductividade especifica do soluto de seralbumina era de $3,98.10^{-6}$ recipr. Ohm. e sua concentração de 2,77%; a pseudo-globulina tinha uma conductividade especifica de $3,26.10^{-6}$ recipr. Ohm., sendo sua concentração tambem de 2,77 %.

Hemoglobina. — Como material usámos de inicio oxyhemoglobina crystallizada, obtida do sangue de cavallo, pelo processo de Hoppe-Seyler. A massa crystallizada foi previamente dialysada com a pseudo-globulina e a seralbumina,

(*) Os resultados das conductividades especificas foram todos corrigidos de accordo com a conductividade especifica da agua, mais ou menos $1.10^{-7}$ reciproco Ω.

em seguida electro-dialysada até obtenção de conductividade especifica constante e então concentrada por meio do phenomeno de camadas. A determinação do residuo secco nos mostrou que o soluto era de 2,20 %. A conductividade especifica era de $2{,}97 . 10^{-6}$ recipr. Ohm..

O soluto de $NaHCO_3$ foi preparado com $NaHCO_3$ *pro analyse* Merck numa concentração de N/1; com esse soluto e com a agua de conductividade foram feitas diluições proporcionaes aos solutos de albuminas usados para determinação da viscosidade. Preparámos de cada albumina 4 solutos differentes: um com 2 % de albumina e N/10 de $NaHCO_3$; outro com 2 % de albumina e N/200 $NaHCO_3$; outro com 1 % de albumina e N/10 de $NaHCO_3$; finalmente, uma com 1 % de albumina e N/200 de $NaHCO_3$. Está subentendido que primeiramente foi verificada a viscosidade de N/10 $NaHCO_3$ e dos solutos de corpos albuminosos a 2 e a 1%.

A viscosidade dos solutos foi determinada com o viscosimetro de Ostwald, sendo cada determinação verificada com dois viscosimetros. A $\frac{\eta}{\eta_1 x}$ = viscosidade relativa foi calculada pela conhecida formula $\frac{S_x . t_x}{S_1 \; t_1}$, na qual substituimos o peso especifico do soluto de N/10 $NaHCO_3$, ou o de 1 % de soluto de corpos albuminosos, por 1,005, o de um soluto a 2 % ou a 1 % de albumina misturado com N/10 $NaHCO_3$, por 1,010 e a mistura de um soluto a 2 % de albuminas com N/10 de $NaHCO_3$, por 1,015. O peso especifico de N/200 $NaHCO_3$ foi considerado igual ao da agua. Os valores theoricos (constando nas tabellas sob o titulo de calculados) foram computados pela formula de Arrhenius, segundo a qual a viscosidade dos systemas formados por dois fluidos é igual á somma dos logarithmos das viscosidades dos componentes ($log.\ \eta_1 + \eta_{11} = X.\ log.\ \eta_1 + (1 - X)\ log.\ \eta_{11}$)

Visto ter o repouso prolongado influencia consideravel sobre a viscosidade, determinámos esta a 12,5° C immediatamente antes de iniciar a pesquisa, effectuando, logo em seguida, as demais determinações, a temperaturas elevadas gradativamente, da maneira mais rapida possivel. O tempo foi medido com o relogio de parada de precisão até 0,1 de segundo.

## Parte experimental

Damos a seguir as tabellas apresentando o resultado de nossas experiencias:

I — Soluto N/10 de $NaHCO_3$

| | |
|---|---|
| 12°,5 | 1,028 |
| 25°,0 | 1,025 |
| 40°,0 | 1,023 |
| 45°,0 | 1,020 |
| 50°,0 | 1,017 |

## COMMENTARIOS

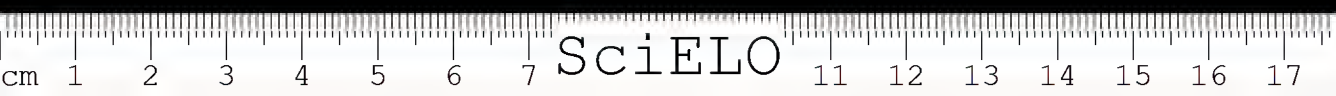
Consideremos em primeiro logar os resultados obtidos com solutos puros. Conforme haviamos previsto, o soluto N/10 $NaHCO_3$ dava, com a elevação da temperatura, uma progressiva diminuição de viscosidade. Essa diminuição não é igual em todos os intervallos da temperatura; em geral, é menos accentuada entre 12,5° e 25° do que entre 40° e 50°, sendo a curva de diminuição muito mais baixa entre 25° e 50°; entre 40° e 50° a diminuição é uma funcção linear de temperatura, de modo que se pode estabelecer uma constante, a qual corresponde, para elevação de temperatura de 1°, a — 0,0006.

Pelos dados constantes das tabellas II e III verifica-se que a viscosidade relativa das ovalbuminas tambem diminue com a elevação da temperatura e em proporções desiguaes. A influencia da temperatura, tanto no soluto a 2 %, como no a 1 %, é relativamente menor entre 12,5° e 25° do que acima de 25°. A diminuição da viscosidade com temperatura elevada representa, entre os dois limites de temperatura (12,5° e 25° e 25° e 40°), uma funcção linear, sendo, porém, estes coefficientes variaveis. Para a temperatura comprehendida entre 12,5° e 25°, ambos os solutos têm, para 1°, o coefficiente de — 0,00016; para o limite de 25° a 50°, o coefficiente é de — 0,0072 para o soluto a 2 % e de 0,0080 para o a 1 %, incidindo estes valores bem dentro dos limites dos erros de experiencia. Podemos, pois, estabelecer que o coefficiente de temperatura da viscosidade da ovalbumina, nas concentrações pesquisadas, tem uma constante independente dessas concentrações.

Com a seralbumina a viscosidade relativa mais baixa occorre a 40°C; acima dessa temperatura, ella torna a augmentar, pelo que 40°C deve ser considerada uma "temperatura critica" para a viscosidade da seralbumina. "Temperatura critica" tambem é para a ionização da seralbumina: tem-se verificado que o augmento da viscosidade acompanha o da ionização (2), devendo-se, pois, suppor que a ionização da seralbumina acima de 40° é tão pronunciada, que o resultante augmento da viscosidade seja capaz de compensar de sobra o effeito opposto, isto é, a diminuição da viscosidade devida á elevação da temperatura. Com esta albumina não ha relação linear entre a temperatura e a viscosidade, de maneira que não é possivel calcular-se um coefficiente applicavel a qualquer dellas dentro dos limites da temperatura.

Como com a ovalbumina, verificámos tambem com a pseudo-globulina que a diminuição da viscosidade acompanha a elevação da temperatura. No soluto a 2 % não observámos, até 40°, nenhum coefficiente fixo de temperatura; a viscosidade calculada para 1° diminue muito mais entre 25° e 40° do que entre 12,5° e 25°; acima de 40° o coefficiente de temperatura é um valor definido: 0,0013 por 1°. No soluto a 1 % verificámos o mesmo coefficiente de temperatura, com a differença de que este só é valido de 25° para cima.





Conforme se deduz das tabellas VIII e IX, a hemoglobina apresenta duas temperaturas criticas. A primeira está a 40°, a outra a 45°. A 40° a viscosidadade attinge seu menor valor, como acontece com a seralbumina. Entre 40° e 45° a viscosidade torna a augmentar, attingindo o segundo ponto culminante a 45° e dahi por diante começando novamente a baixar. Este comportamento da hemoglobina explicamol-o da seguinte maneira: suppomos que seu maximo de dissociação esteja em 45° e, passada essa temperatura, a ionização baixe de tal modo, que perca a capacidade de compensar a diminuição da viscosidade produzida pela temperatura. Comparando-se os resultados obtidos com a seralbumina e com a hemoglobina, pode-se concluir o seguinte, quanto á ionização: com a seralbumina a ionização é accelerada pela elevação da temperatura, enquanto com a hemoglobina a ionização retrocede, ou, por outra, a acção da temperatura favoravel á ionização pára acima de 45°.

A influencia do $NaHCO_3$ consiste em geral em augmentar, de uma certa temperatura em diante, a viscosidade das albuminas. Até agora só encontrámos um desvio desse comportamento na pseudo-globulina; por isso, daqui por diante, deixaremos de considerar esta albumina e nos occuparemos em primeiro logar dos resultados obtidos com as demais albuminas bicarbonatadas.

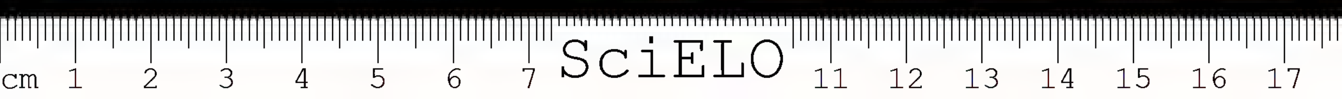
Com o soluto a 2% da ovalbumina os valores encontrados e os calculados coincidem bem até 40°. Acima dessa temperatura os valores encontrados são muito mais elevados do que os calculados e este augmento da viscosidade, isto é, a differença entre os valores encontrados e os calculados, augmenta juntamente com a temperatura. O facto de ser o augmento da viscosidade devido apenas ao effeito alcalino produzido pela elevada dissociação do $NaHCO_3$ é sobejamente comprovado pela circumstancia de a acção do N/10 $NaHCO_3$ ser muito mais forte do que a concentração normal de 0,02. Considerando-se tambem os resultados obtidos com o soluto da ovalbumina a 1%, encontrar-se-á mais um argumento a favor de nossa opinião acima exposta, sobre a acção do $NaHCO_3$, pois, nesse caso, a 25% já se notará o effeito alcalino do $NaHCO_3$. Esta circumstancia é perfeitamente explicavel: o soluto a 1 % fixa menos $NaHCO_3$ do que o a 2 %, seguindo-se dahi que no soluto contendo menos albumina haverá mais $NaHCO_3$ dissociavel.

Em geral a seralbumina mostra o mesmo comportamento. Tambem nesta albumina os valores encontrados só acima de 40° ultrapassam os calculados. Entretanto, podem-se verificar dois pontos de divergencia:

1) a differença entre a viscosidade encontrada e a calculada é muito menor;

2) a acção alcalina exercida pelo $NaHCO_3$ a 0,02 norm. é quasi nulla. A seralbumina mostrou-se, pois, mais resistente para com o $NaHCO_3$ do que a ovalbumina, o que se explica provavelmente pelas diversas condições de dissociação destas albuminas. As investigações nesse sentido feitas por von



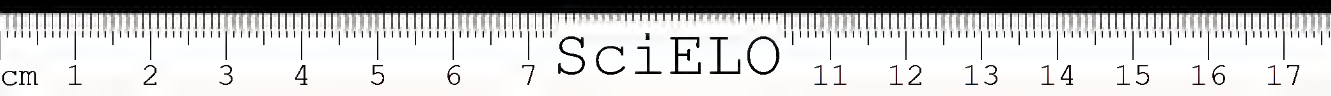


Klobusitzky e Pauli (3) demonstraram que a ovalbumina a 25°C apresenta muito mais particulas ionizadas (ora iões de carga negativa, ora iões amphotericos) do que a seralbumina, pois o primeiro corpo continha 51% de particulas ionizadas em um soluto a 2%, enquanto o ultimo apresentava, num soluto a 1,72%, 19,2% de particulas dissociadas. Pode-se affirmar com segurança que a dissociação dos corpos albuminosos é tambem favorecida pela elevação da temperatura, sendo, naturalmente, essa influencia muito maior quanto mais particulas não dissociadas contiver a respectiva albumina. Essa explicação é ainda confirmada pelos resultados por nós obtidos com as albuminas puras.

Quanto ás modificações da viscosidade, as hemoglobinas bicarbonatadas approximam-se mais das seralbuminas bicarbonatadas. A elevação dos valores encontrados sobre os calculados dá-se igualmente só acima de 40°, sendo tambem minima. A differença entre os effeitos do $NaHCO_3$ a N/10 e o normal a 0,02 é tambem muito pronunciada. A alta resistencia da hemoglobina para com o $NaHCO_3$ não pode, entretanto, ser explicada á luz da theoria que estabelecemos em relação á seralbumina, por não serem iguaes as condições de dissociação observadas pelos auctores relativamente á seralbumina e á hemoglobina. A hemoglobina compõe-se quasi que exclusivamente de iões amphotericos, os quaes, nessa albumina, neutralizam pela porção não dissociada.

O comportamento das pseudo-globulinas bicarbonatadas é completamente diverso do das outras albuminas bicarbonatadas, apparecendo tambem nesta albumina consideraveis differenças entre os solutos a 1 e a 2%. É curioso que o soluto bicarbonatado a 2% apresente uma viscosidade menor do que o soluto puro e que essa diminuição da viscosidade (outro facto interessante) seja muito maior no soluto de $NaHCO_3$ a N/200 do que no a N/10. Esses resultados, ainda extraordinarios pelo facto de terem as pseudoglobulinas a 1 %, tanto com N/10, quanto com N/0,02 $NaHCO_3$, apresentado um comportamento semelhante ao das hemoglobinas bicarbonatadas com $NaHCO_3$ N/200, surprehenderam-nos a ponto de a principio os considerarmos errados; porém, os verificámos em repetidas experiencias, feitas com solutos preparados por outros collegas, nas quaes sempre se conservaram iguaes. Embora não possamos descobrir uma explicação satisfactoria para esses factos, occorre-nos no momento a seguinte talvez plausivel: a viscosidade do pseudo-globulinato de Na, por motivo desconhecido, seria menor do que a da pseudo-globulina pura. Inclinamo-nos a esta supposição em vista dos resultados, por diversas vezes referidos, que v. Klobusitzky e Pauli apresentaram sobre as condições de dissociação das albuminas livres de electrólytos, indicando um desvio no comportamento da pseudo-globulina tambem nesse sentido. Nesta albumina a dissociação é maxima numa concentração de 3%, mais ou menos, e diminuta em qualquer concentração maior ou menor;





no soluto a 2% são dissociados approximadamente 70-75%, isto é, as condições são muito favoraveis á fixação de $NaHCO_3$; ao contrario, o soluto a 1% apresenta apenas cerca de 34% partes dissociadas, o que indica menor capacidade de fixar $NaHCO_3$. O comportamento anormal da pseudo-globulina explicar-se-ia suppondo-se, como acima dissemos, que a viscosidade relativa do pseudo-globulinato de Na seja menor do que a da pseudo-globulina pura. Entretanto, reconhecemos os pontos falhos desta theoria e, longe de consideral-a absolutamente acceitavel, achamos apenas que provisoriamente serve á interpretação dos factos estabelcidos em relação á pseudo-globulina.

Ao terminar estas considerações, não podemos deixar de nos referir ás verificações de Ettisch e Sachs sobre o assumpto. Em um de seus trabalhos recentes (4) esses auctores escreveram o seguinte: "O effeito do alcali sobre a albumina é evidentemente uma funcção de tempo". A' luz dos resultados que obtivemos, não podemos concordar com essa affirmação, pois somos de opinião que a acção do alcali se manifesta num augmento da viscosidade das albuminas e que o seu effeito está em proporção directa ao grau de dissociação da albumina e do alcali empregados. Entretanto, julgamos, com Ettisch e Sachs, que, em vista dos resultados das determinações da viscosidade, a seralbumina e a pseudo-globulina devem ser consideradas substancias albuminosas absolutamente distinctas, ratificando, assim, a opinião que no particular já foi por um de nós emittida em outro trabalho (5).

## RESUMO


Pelas pesquisas realizadas sobre o attrito interno de solutos puros de ovalbumina, seralbumina, pseudo-globulina e hemoglobina, assim como dos respectivos solutos com $NaHCO_3$, chegámos ás seguintes conclusões:

1) A viscosidade dos solutos puros de albumina diminue em geral com a elevação da temperatura. A viscosidade minima da seralbumina e da hemoglobina occorre a 40°C, ao passo que as demais albuminas apresentam uma constante diminuição a qualquer temperatura entre 12,5° e 50°C, diminuição essa que, em algumas albuminas e dentro de um certo limite de temperatura, é uma funcção linear.

2) Acima de 40°C, $NaHCO_3$ produz um augmento da viscosidade relativa, com excepção da pseudo-globulina bicarbonatada a 2%. Este augmento é muito mais pronunciado nos solutos contendo menor proporção de albumina e maior de bicarbonato do que em solutos nos quaes se encontra a albumina em maior, e o bicarbonato em menor, concentração. Esse effeito do $NaHCO_3$ é attribuido á acção do alcali.

3) A explicação desses phenomenos é tentada no texto; em parte, residiria em que a viscosidade do pseudo-globulinato de sodio talvez seja, por motivo desco-

nhecido, menor do que a da propria pseudo-globulina pura, hypothese essa que carece de verificação.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchungen der inneren Reibung von reinen Ovalbumin — Serumalbumin — Pseudoglobulin — und Haemoglobulinlösungen, sowie von aus denen mit $NaHCO_3$ gebildeten Gemischen haben ergeben:

1) Die Viskosität der reinen Eiweisslösungen nimmt mit steigender Temperatur im Allgemeinen ab. Das Serumalbumin und das Haemoglobin haben ihre niedrigste relative Viskosität bei 40° C, die anderen untersuchten Eiweisskörper zeigen dagegen in dem ganzen Temperaturbereich (von 12,5 bis 50,0°C) eine ständige Abnahme. Diese Abnahme ist bei gewissen Eiweisskörpern und innerhalb eines gewissen Temperaturbereiches eine lineare Funktion.

2) Das $NaHCO_3$ hat—abgesehen von dem 2%-igen Pseudoglobulin-Bicarbonatgemisch — oberhalb der Temperatur von 40° eine Erhöhung der rel. Viskosität hervorgerufen. Dieser Effekt des $NaHC_3$-es war in Lösungen mit niedrigerem Eiweiss-und höheren Bicarbonatgehalt stärker, als in Lösungen von höherer Eiweiss-und niedrigerer Bicarbonatkonzentration. Diese Wirkung des $NaHCO_3$-es wird für einen Alkalieffekt aufgefasst.

3) Die Wirkung des $NaHCO_3$-es wird im allgemeinen mit den Dissoziationsverhältnissen der untersuchten Eiweisskörper erklärt. Es wird versucht die Sonderstellung der 2% - igen Pseudoglobulinlösung mit der Hypothese, dass das Na-Pseudoglobulinat eine niedrigere Viskosität, besitzt, als das reine Pseudoglobulin, plausibel zu machen.

---

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Laqueur, G. & Sackur, O.* — Beiträge zur chem. Physiol. III:193.1903.
2. *Pauli, W. & Valkó, E.* — Elektrochemie der Kolloide: 229-238. Edit. J. Springer, Vienna, 1929.
3. *von Klobusitzky, D. & Pauli, W.* — Biochem. Zeitschr. (em impressão).
4. *Ettisch, G. & Sachs, H.* — Biochem. Zeitschr. CCXXX:115.1931.
5. *von Klobusitzky*, D. — Kolloidchem. Beihefte XXXII:382.1931.

(Experiencias realizadas, primeiramente em agosto de 1930, no laboratorio de Chimica Colloidal da Faculdade de Medicina da Universidade de Vienna, Austria. Original em alemão enviado para publicação *in* Biochem. Zeitschrift, em março de 1932).

(Trabalho da Secção de Physico-Chimica do Instituto Butantan, recebido em março de 1932).





# CONTRIBUIÇÃO AO EXAME DOS VIDROS PARA EMPOLAS

POR

D. von KLOBUSITZKY

---


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17

542.235

# CONTRIBUIÇÃO AO EXAME DOS VIDROS PARA EMPOLAS

POR

D. VON KLOBUSITZKY

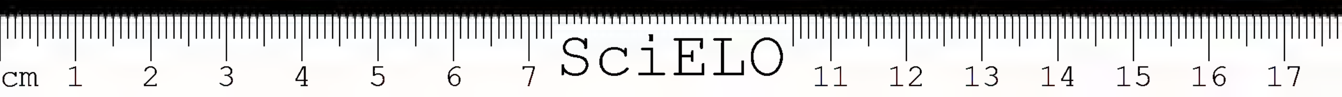
---

A prova da resistencia chimica de um vidro para empola limita-se em geral á determinação da concentração dos iões de hydrogenio, isto é, da quantidade de alcali que pode transmittir, em relação á agua. O vidro, como é sabido, consiste principalmente em diversos silicatos, os quaes, conforme a constituição do mesmo, dão quantidades differentes de alcali, podendo, pois, modificar a reacção dos solutos contidos nas empolas. Esta qualidade do vidro é sobretudo importante quando se trata de empolas destinadas á conservação de solutos chimicos ou de productos sericos ou biotherapeuticos. Os saes dos alcaloides (morphina, estrychnina, etc.) são, p. ex., decompostos por influencia do alcali recebido do vidro e suas bases livres, que geralmente não são soluveis na agua, separam-se em crystaes: a actividade das antitoxinas e dos corpos immunes é alterada pela reacção do meio e, visto como taes productos são geralmente conservados em stock por muito tempo, o conteudo da empola (no caso de emprego de empolas cujo vidro pode dar grande quantidade de alcali) passa a ter uma reacção completamente diversa, *ceteris paribus*, uma actividade differente da que possuia na epoca da titulação e empolamento.

Segue-se dahi que na prova das empolas não nos interessa directamente a quantidade total de alcali que pode diffundir na experiencia, mas somente a quantidade de alcali que cada empola pode transmittir ao seu conteudo durante o tempo de conservação. Essa verificação, entretanto, torna-se bastante difficil na pratica, porque deveriamos examinar o vidro com cada substancia separadamente, sendo, pois, alcançado o resultado somente depois de muito tempo. Somos, por este motivo, obrigados a empregar um processo que em pouco tempo nos oriente, pelo menos approximadamente, mas com a necessaria exactidão, sobre a quantidade de alcali transmittida pelo vidro.

Na escolha do methodo devemos em primeiro logar ter em vista as theorias explicativas do processo que se passa entre a empola e seu conteudo. Podemos encarar esse processo de dois modos, considerando-o, ou como um phenomeno passageiro de adsorpção na superficie de contacto solido-liquido, ou como uma reacção chimica que se dá num systema heterogeneo de duas phases.





Vejamos a primeira hypothese. Neste caso devemos procurar determinar ou a energia livre relativa á concentração de iões respectivamente de H e de OH (no sentido do conceito de Helmholtz) ou o equilibrio de adsorpção do nosso systema.

A energia livre nos phenomenos de adsorpção de duas superficies de contacto diversas pode-se determinar, segundo as deducções de Lord Kelvin e G. N. Lewis, da seguinte maneira: suppondo-se que a temperatura seja mantida praticamente constante durante todo o tempo de conservação e que não haja modificação de concentração entre as duas superficies de contacto, a energia livre do systema é indicada pelas seguintes equações:

$$\left(\frac{\partial \gamma}{\partial P}\right)_\sigma \quad \text{e} \quad \left(\frac{\partial V}{\partial \sigma}\right)_P$$

nas quaes $\left(\frac{\partial \gamma}{\partial P}\right)$ indica o quociente da differencial parcial da tensão superficial pela pressão e $\left(\frac{\partial V}{\partial \sigma}\right)$ o quociente da tensão pelo volume representado pela superficie.

As formulas mostram-nos, pois, que a energia livre em taes condições, isto é, em temperatura constante e sem reacção chimica, depende da pressão e da superficie. Pela equação acima conclue-se immediatamente que a mesma depende, no caso de pressão constante, da superficie e da temperatura e, quando pressão e temperatura não são modificadas, apenas da superficie.

O que nos interessa, entretanto, é, em primeiro logar, a modificação das condições em consequencia de uma reacção chimica. No systema empola-vidro de empola ha sem duvida diversas reacções, mas, para simplificar o problema, consideramos apenas a quantidade de iões de OH que o vidro pode transmittir e suppomos que a temperatura e a pressão se conservem constantes. O que varia é, pois, somente a quantidade de iões de OH, de sorte que podemos indicar a relação existente entre as diversas variaveis por meio da formula de Gibbs: $\left(\frac{\partial \gamma}{\partial n}\right)_\sigma$ na qual $\left(\frac{\partial \gamma}{\partial n}\right)$ representa o quociente de differencial parcial da tensão superficial conforme o numero molecular dos iões de OH fornecidos e $\sigma$, como na formula anterior, a medida da respectiva superficie. A energia livre resulta, pois, novamente em uma funcção de duas alternadas, uma das quaes (a tensão superficial) desconhecemos e, por falta de um processo de determinação apropriado, não podemos avaliar e a outra (a quantidade fornecida de iões de OH) estamos procurando.

Consideremos agora nosso problema sob o ponto de vista do equilibrio de adsorpção. Como é sabido, pode-se representar o equilibrio de adsorpção de um systema qualquer por meios differentes, como, p. ex., pela chamada formula geral de adsorpção de Gibbs, que é a seguinte:

$$a = -\frac{c}{R.T} \cdot \frac{d\,\sigma ls}{d\,c}$$

representando **a** o excesso de material calculado pela unidade de superficie, **c** a concentração do mesmo, **R** a constante geral do gas, **T** a temperatura expressa na escala de Kelvin e $\sigma ls$ a tensão da superficie de contacto do corpo solido com o liquido. Esta formula contem por sua vez a tensão da superficie de contacto, a qual — como acima já dissemos — não se pode determinar experimentalmente.

A formula de Freundlich, chamada formula isothermica de adsorpção, e cuja temperatura se suppõe ser constante, exige o conhecimento exacto do tamanho da superficie, pois é organizada da seguinte maneira:

$$\frac{x}{q} = a.\,C^{\frac{1}{n}}$$

sendo **x** a quantidade adsorvida, na superficie **q**, da substancia que tem a concentração final **C**, e **a** e $\frac{1}{n}$ representando constantes. Considerando as superficies do nosso systema, não devemos perder de vista que, em consequencia de processos de diffusão, a composição da camada de liquidos em contacto com o vidro é alterada constantemente, de maneira a comportar-se para com o vidro como uma superficie nova, enquanto não se estabelecer um equilibrio entre o vidro e seu conteudo.

As equações de H. C. Schmidt e Sv. Arrhenius são realmente identicas, porque a primeira representa apenas a forma integrada da segunda. Em ambas é necessaria a determinação do maximo de adsorpção e a concentração da substancia adsorvente, sendo, portanto, a consideração do processo da diffusão tão indispensavel por essa formula quanto pela de Freundlich.

Seguindo-se theoricamente uma reacção chimica de duas phases que transcorrem em systema heterogeneo, a primeira tarefa é estabelecer-se sua velocidade de reacção. Tanto as considerações theoricas, como os resultados experimentaes indicam que em temperatura constante são influidos principalmente por dois factores: a superficie de contacto e a differença de concentração do corpo que soffre alteração, podendo, porém, outras circumstancias de ordem secundaria tambem representar um papel importante, de sorte que é impossivel estabelecer-se uma formula geral. Quando, porém, a velocidade de reacção não pode ser formulada theoricamente, isto significa que na determinação experimental de taes reacções se devem considerar todos aquelles factores que impedem uma reducção a formula mathematica.

Para provar a exactidão do que dissemos, consideremos a quantidade de alcali que o vidro pode dar. Supponhamos que conhecemos as concentrações

de iões de OH do vidro e do conteudo da empola e que a do primeiro seja pequenissima em relação á da segunda (podemos perfeitamente suppor isso, porque o conteudo da empola é, na maioria dos casos, quasi neutro); a compensação dessa differença de concentração depende: 1) da extensão das superficies de contacto; 2) da constituição das phases reagentes; 3) da velocidade de diffusão dos iões de OH; 4) da temperatura do logar onde é conservada; 5) da maneira de conservação.

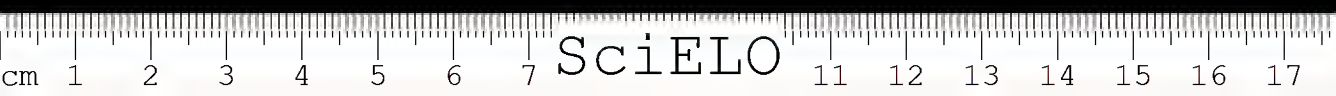
Conforme se vê, para se ter conhecimento da quantidade de alcali que o vidro pode transmittir, é necessario que escolhamos methodos que 1) indiquem o conteudo total de alcali livre do vidro e 2) tenham em conta a superficie total do systema. Essas duas condições são mais facilmente preenchidas quando as determinações são feitas com suspensões por meio de vidro finamente pulverizado.

Provavelmente é este o motivo de na *Pharmacopea Germanica* (Deutsches Arzneibuch) ser indicado como processo official e obrigatorio para o exame dos vidros de empolas a determinação do pH de suas suspensões aquosas. Este processo, porém, em virtude de abranger superficies de vidro que nunca estão em contacto com o liquido, nos indica indubitavelmente quantidade de alcali maior do que a realmente transmittida pela empola. Apesar de sua grande sensibilidade, este methodo ou outro semelhante não constitue difficuldade para o profissional, quando conhece o fim a que se destinam as empolas para poder então avaliar os resultados. E' natural, no entanto, que na pratica fossem procurados processos menos sensiveis. Assim, entre outros, foram propostos os seguintes: 1) A empola, enchida com agua destillada contendo, por litro, 5 cc. de soluto alcoolico de phenolphtaleina, é fundida e esterilizada durante duas horas em autoclava a 130°. Considera-se aproveitavel o vidro quando não houver signaes de coloração rosea. 2) Enche-se a empola com soluto de nitrato de estrychnina a 0,5%, esterilizando-se em seguida como no processo anterior. O vidro é considerado bom quando na empola, após conservação em temperatura ambiente durante 24 horas, não houver formação de crystaes (1). Ambos os processos baseiam-se, pois, na modificação da reacção do conteudo da empola e dão resultado positivo com vidros que elevam o pH a mais de 9-9,5. A prova 1 é menos sensivel do que a prova 2. Estas e outras provas semelhantes são commumente empregadas mesmo na Alemanha, sustentando seus partidarios uma verdadeira campanha contra o acima referido processo official (2).

Não ha razão, entretanto, para se rejeitar esse methodo, porque os resultados experimentaes, quando correctamente avaliados, são praticamente iguaes em ambos os processos.

Preferimos os methodos nos quaes se utiliza o vidro pulverizado por ser restricta a applicabilidade de processos menos precisos. Estes só podem ser garantidos quando para a prova se tem á disposição o material todo, de sorte





que as experiencias possam ser feitas com amostras escolhidas para o exame; nos casos, porém, em que são remettidas para exame apenas amostras avulsas, é absolutamente necessario que estas sejam examinadas em estado de pulverização. E' logico que a pulverização é feita immediatamente antes da prova, devendo-se recusar as amostras que forem enviadas reduzidas a pó. Com amostras avulsas ou pulverizadas ha sempre a possibilidade de terem sido previamente evaporadas com vapor d'agua, pelo que a superficie interna do vidro ficou artificialmente libertada do alcali, comportando-se á prova como livre de alcali.

Foi exclusivamente esta circumstancia que nos tem induzido a effectuar as experiencias com vidro pulverizado, por só nos serem entregues para exame geralmente amostras das partidas a serem compradas.

A determinação do pH na suspensão de agua e vidro é feita electrometricamente, sendo consideradas inaproveitaveis as amostras de vidro que elevaram a reacção da mesma muito acima de 9,5. Tomou-se como limite maximo da quantidade de alcali que pode ser transmittida o pH, cujo valor mais elevado nos vidros especialmente resistentes é de 8,5. Damos abaixo os resultados da experiencia, sendo que a agua com que se fizeram as suspensões tinha um pH de 5,47:

| Material de experiencia | pH | Resultado da verificação |
|---|---|---|
| Vidro normal de Jena 16.III . . . . . | 7.78 | adequado |
| Vidro de Schott "Phiolax" . . . . . | 7.83 | " |
| Vidro Pyrex. . . . . . . . . . . . | 8.42 | " |
| Vidro de procedencia ignorada . . . . . | 9.68 | + " |
| Vidro de uma fabrica no Rio de Janeiro . | 9.78 | não adequado |
| Vidro de uma fabrica em São Paulo. . . | 9,87 | " " |
| Vidro de uma fabrica em S. Paulo. . . | 10.02 | " " |
| Vidro de procedencia ignorada . . . . . | 10.26 | " " |
| Vidro italiano . . . . . . . . . . . | 10.31 | " " |

Para nos certificar da exactidão desses resultados, fizemos algumas determinações, em parte com agua, em parte com empolas N/1000 de HCl. As empolas eram nesse caso esterilizadas no autoclava a 130°, durante periodos differentes, ou conservadas por 16 dias em temperatura ambiente. Os resultados foram os seguintes:

A N/1000 de HCl teve pH de 3,20, tendo-se o mesmo alterado após 16 dias de conservação (sem agitar) nas differentes empolas da seguinte maneira:

| | |
|---|---|
| Vidro Pyrex . . . . . . . . . . . . . . | 3,31 |
| Vidro de procedencia ignorada (pH 9,68) . . . . | 3,51 |
| Vidro de uma fabrica em S. Paulo (pH 9,87) . . . | 4,04 |

A N/1000 HCl teve um pH de 3,19, o qual, *após meia hora* de esterilização nas diversas empolas, se modificou do seguinte modo:

Vidro de Jena . . . . . . . . . . . . . . 3,20
Vidro de procedencia ignorada (pH 9,68) . . . . 3,38
Vidro de procedencia ignorada (pH 10,26) . . . . 3,40

Verifica-se, pela comparação dos resultados obtidos por meio de esterilização e conservação, a esterilização sendo de meia hora, que a quantidade de alcali transmittida é menor do que após 16 dias de conservação.

Para se determinar exactamente a influencia da duração da esterilização, deixámos, durante periodos differentes no autoclava, empolas com agua destillada.

Eis os resultados:

| | Tempo de esterilização | | |
|---|---|---|---|
| | 1/2 hora | 1 hora | 2 horas |
| Vidro normal de Jena . . . . . . . . . . | 5,90 | 5,99 | 6,32 |
| Vidro de uma fabrica em S. Paulo (pH 9,87) . | 6,34 | 8,32 | 8,56 |
| Vidro de procedencia ignorada (pH 10,26) . . | 6,68 | 8,21 | 9,18 |
| | pH | pH | pH |

A influencia da previa evaporação era avaliada do seguinte modo: determinámos o pH do vidro antes da evaporação em estado pulverizado e depois da evaporação, durante meia hora, sendo, na primeira prova, após esterilização de duas horas (1) e, na segunda, pelo processo da suspensão (2).

Os resultados se depreendem dos dados abaixo, sendo que o pH da agua destillada era de 5,88:

| | | Depois da evaporação | |
|---|---|---|---|
| | | 1 hora | 2 horas |
| Vidro normal de Jena 16.III . . . . . . | 7,83 | 5,87 | 7,88 |
| Vidro de procedencia ignorada. . . . . . . | 10,26 | 7,56 | 9,90 |
| Vidro italiano (pulverizado). . . . . . . . | 10,31 | — | 6,10 |

## CONCLUSÕES

Pelos nossos estudos chegámos aos seguintes resultados:

1) Para a determinação da resistencia chimica dos vidros de empolas são adaptados todos os processos que, para a indicação da quantidade de alcali, consideram tambem a superficie.

2) Todo vidro que, suspenso em agua destillada, não elevar o pH muito acima de 9,5, pode ser considerado aproveitavel para empolas.

3) Na applicação do processo de autoclava é necessario que as empolas sejam conservadas no autoclava durante 2 horas.

4) Deve-se preferir o processo supersensivel da suspensão em todos os casos em que são enviadas para prova apenas amostras avulsas.


## ZUSAMMENFASSUNG

Es werden die theoretischen Grundlagen der Ampullengläserprüfung hinsichtlich auf ihr Alkaliabgabevermögen besprochen und die Resultate derartiger, mit verschiedenen Methoden durchgeführten Bestimmungen mitgeteilt.

Auf Grund der theoretischen Folgerungen und der Versuchsergebnisse, werden die folgenden Konklusionen geschlossen:

1) Für die Bestimmung der Wiederstandsfähigkeit der Ampullengläser eignen sich alle diejenigen Methoden, die bei der Alkaliabgabe derselben das Ausmass der Oberflächen berücksichtigen.

2) Alle diejenigen Glassorten, die in destilliertem Wasser suspendiert, das pH dessen nicht bedeutend über 9,5 erhöhen für Ampullenzwecke als verwendbar zu beurteilen sind.

3) Bei der Anwendung der Autoklavmethode müssen die Ampullen 2 Stunden lang im Autoklav gehalten werden.

4) Die viel zu empfindliche Suspensionsmethode ist vorzuziehen in allen Fällen, wo zwecks der Prüfung nur einzelne Stücke eingesendet werden.


---

## BIBLIOGRAPHIA


1. *Frerichs, G., Arends, G. & Zörnig, H.* — Hbuch der pharm. Praxis 1:402.1925. J. Springer, Berlin.
2. *Ubrig, E.* — Pharmaz. Ztg. LXXVII:237.1932.


(Trabalho da Secção de Physico-Chimica do Instituto Butantan, terminado em Julho de 1932; a ser publicado tambem em alemão in Kolloid-Zeitschrift).

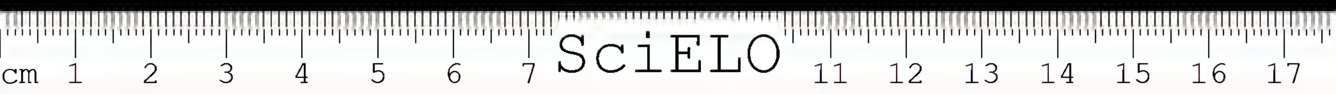

cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

# APPARELHO SIMPLES PARA PRODUZIR HYDROGENIO OU OXYGENIO POR ELECTROLYSE

POR

D. VON KLOBUSITZKY

*(com 1 gravura no texto)*


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

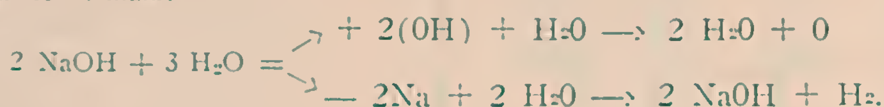
545.3:456.11:546.21

# APPARELHO SIMPLES PARA PRODUZIR HYDROGENIO OU OXYGENIO POR ELECTROLYSE

POR

D. von KLOBUSITZKY

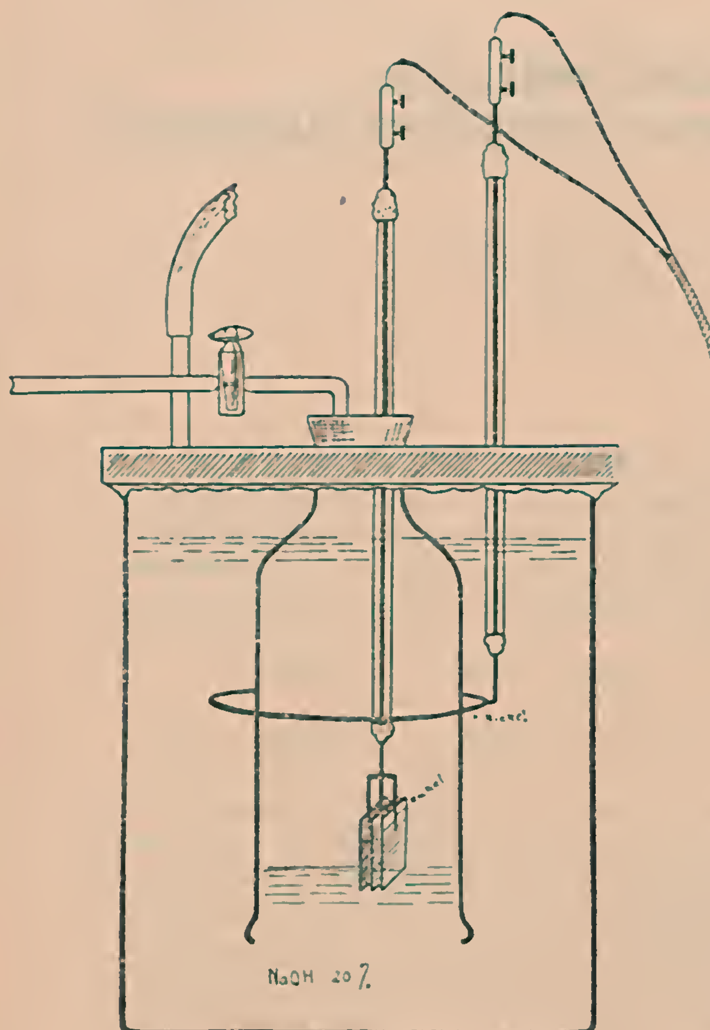
O desenho incluso representa um apparelho muito simples, de nossa construcção, capaz de fornecer por meio de electrolyse uma corrente constante de hydrogenio ou de oxygenio, sem que seja necessario vigiar seu funccionamento, cujo principio está fundado no facto, bastante conhecido, de a agua alcalinizada, ao receber uma corrente electrica continua, produzir H e O, de accordo com a seguinte formula:



$$2\ NaOH + 3\ H_2O = \begin{cases} + 2(OH) + H_2O \rightarrow 2\ H_2O + O \\ - 2Na + 2\ H_2O \rightarrow 2\ NaOH + H_2. \end{cases}$$

A cuba do electrólyto tem o volume de 10 a 12 litros e é coberta de uma placa de madeira com tres furos, sendo 2 de menor diametro e 1 maior. Neste fixa-se uma garrafa, de bocca larga, de um litro de capacidade (p. ex., uma garrafa de leite) e desprovida de fundo; a bocca é tapada por uma rolha de cortiça com dois furos; por um delles transfixa-se o electrodo interno e pelo outro faz-se passar um tubo recurvado e munido de uma torneira. Por um dos furos menores da placa faz-se passar, bem justo, o segundo electrodo; no furo restante prende-se um tubo de escapamento para o gas não utilizado. O gas utilizado é o produzido ao nivel do electrodo interno, que, por isso, deve offerecer grande superficie de contacto e ser collocado mais para o fundo da garrafa; para obter-se uma superficie metalica consideravel empregam-se tres placas de 2x3 cm., ligadas às pontas de um tridente. O electrodo externo, fixado mais para cima, é construido, de preferencia, em forma de anel e circumdando a garrafa.

Ambos os electrodos devem ser fabricados de nickel puro. Todas as juntas do apparelho devem ser tomadas hermeticamente por uma mistura de cera e breu. A corrente usada é a continua commum, de 110 v., cuja força se reduz para menos de 2 Amp. por meio de uma resistencia feita com lampadas de carvão, em serie.




Para obter-se hydrogenio, deve-se, naturalmente, ligar o electrodo interno ao polo negativo, ao passo que, para obter-se oxygenio, se liga esse mesmo electrodo ao polo positivo.

O apparelho permitte desligar automaticamente a corrente, pelo facto de a producção excessiva de gas, dentro da garrafa, comprimir o electrolyto para baixo, interrompendo, assim, o contacto deste com o electrodo interno.

Como electrolyto usa-se um soluto de NaOH commercial a 20 %, cuja composição se conserva durante muito tempo, porquanto só uma terça parte da agua é consumida. Renova-se essa quantidade de vez em quando. A duração dos electrodos depende de seu maior ou menor uso. Usando o nosso apparelho cerca de 1 hora por dia, temos observado que a formação de oxydo de nickel é muito pequena.

E' conveniente fazer borbulhar o hydrogenio formado por uma solução acidulada de $KMnO_4$ e o oxygenio, por uma solução concentrada de KOH, afim de laval-os.

## RESUMO

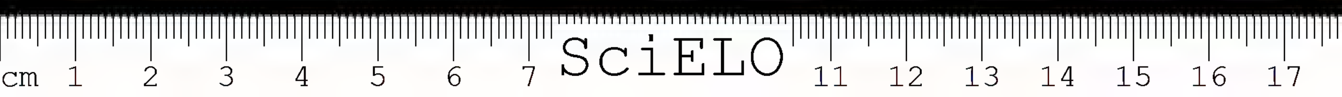
Descreve-se um apparelho automatico, electrolytico, de facil construcção e capaz de gerar uma corrente constante de *H* ou *O*.

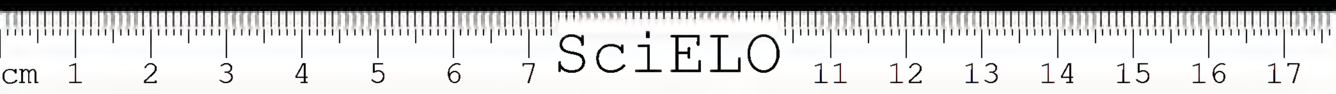
## ABSTRACT

A new electrolytic apparatus of easy construction is described for the automatic production of hydrogen and oxygen.

(Trabalho da secção de Physico-Chimica do Instituto Butantan, novembro de 1932, a ser publicado em alemão in Biochem. Zeitschrift).



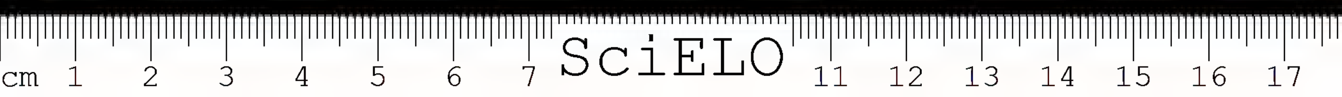



cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

# TYPHO EXANTHEMATICO DE S. PAULO

POR

J. LEMOS MONTEIRO E FLAVIO DA FONSECA



614.526

# TYPHO EXANTHEMATICO DE S. PAULO

## XI. Novas experiencias sobre a transmissão experimental por carrapatos

## *(Boophilus microplus e Amblyomma cajennense)*

POR

J. LEMOS MONTEIRO E FLAVIO DA FONSECA

Em trabalho anterior (1) foi relatada uma serie de pesquisas sobre a possibilidade de transmissão experimental do typho exanthematico de São Paulo por *Ixodidae*. No presente artigo nos occuparemos de uma nova serie de experiencias com duas especies de carrapatos, o *Boophilus microplus* e o *Amblyomma cajennense* existentes na zona onde a infecção se tem mostrado sob forma endemica.

Exemplares adultos destes carrapatos, colhidos em animaes (bois e cavallos do Instituto) e que não se mostraram naturalmente infectados, como ficou demonstrado pela inoculação de varios delles em cobaias, foram postos a sugar cobaias infectadas com o typho exanthematico de São Paulo, durante o periodo de pyrexia. Os carrapatos permaneciam sobre o animal durante um ou mais dias, sendo recolhidos quando se desprendiam e conservados em tubos apropriados. Decorrido certo numero de dias, uns eram postos a sugar cobaias normaes, outros eram lavados, triturados, emulsionados em solução physiologica e inoculados, ainda outros eram incluidos para cortes e outros, finalmente, eram conservados com o fim de obter posturas, destinada a se verificar a infectuosidade dos ovos e larvas delles oriundos.

### Experiencias com o *Boophilus microplus* (CAN., 1888)

*Cobaia 659, Cobaia 660, Cobaia 662,* inoculadas em 23.III.932 respectivamente com emulsão de 2 ♀, 1 ♀ e 2 ♀ que haviam sugado em 12.III.932 a cobaia 641, infectada. Resultado negativo, por não terem as cobaias apresentado reacção febril e não se terem mostrado immunizadas ao ser nellas praticada a

inoculação de virus, com excepção da 660, que morreu accidentalmente, sem esta segunda prova.

*Cobaia 734* e *Cobaia 737*, inoculadas em 20.IV.932, respectivamente com 9 exemplares (mortos havia alguns dias), alimentados de 8 a 11.IV.932 na cobaia 697 (desde o 1.° dia de reacção febril) e 2 ♀ que haviam sugado cerca de 92 horas (12 a 16.IV.932) a cobaia 700 (do 2.° dia de reacção febril em diante). Resultado negativo; ausencia de reacção febril e de immunidade á inoculação de virus activo.

*Cobaia 744* e *Cobaia 746a*. — Submettidas em 19.IV.932 á picada de, respectivamente, 1 ♀ que 11 dias antes havia sugado durante 17 horas a cobaia 673 infectada (3.° e 4.° dias de reacção febril) e 6 exemplares que 7 dias antes haviam picado a cobaia 700, infectada, durante 92 horas. A 21.IV o carrapato tinha abandonado a primeira cobaia e na segunda somente um exemplar continuava fixo.

Resultado negativo; ausencia de reacção febril e de immunidade ao virus.

Das experiencias com o *Boophilus*, a unica da serie de resultado positivo, foi a seguinte:

*Cobaia 733* — Inoculada em 20.IV.932 com 2 ♀ que 13 dias antes (7 a 8.IV.932) haviam picado durante cerca de 17 horas a cobaia 673, infectada, no 3.° dia de reacção febril (40°). A cobaia 733 não apresentou curva typica da temperatura, porém reacção thermica acima da normal, attingindo 40° no 5.° e 9.° dias, a contar do inicio da picada. No 6.° dia, com a temperatura de 39°,6, foi sangrada e com seu sangue inoculada a cobaia 749.

*Cobaia 749* — Inoculada em 26.IV.932 com 2 cc. de sangue da cobaia 733. Após incubação de 6 dias a temperatura attinge 40°, ahi se mantendo nos dias seguintes, elevando-se a 40°,2 no 11.° e morrendo na manhã de 9.V.932. A pesquisa de *Rickettsia* nas cellulas mesotheliaes da parede peritoneal foi positiva (++++), sendo a infecção tambem confirmada pela inoculação do sangue feita no 9.° dia na cobaia 765 e de emulsão de cerebro na cobaia 773. Estas ultimas tiveram infecção caracteristica, tendo sido feitas novas passagens do virus, num total de 5, nas cobaias 780, 783 e 789.

Uma unica experiencia (cobaia 661) feita com inoculação de ovos postos por um *Boophilus*, 11 dias após ter sugado uma cobaia infectada, foi negativa.

### Experiencias com o *Amblyomma cajennense* (Fabr., 1787)

Com esta especie de carrapato os resultados foram mais interessantes e demonstrativos do papel que possivelmente representa como transmissor natural do typho exanthematico de S. Paulo.

Das 5 experiencias realizadas, apenas uma deu resultado negativo; nas outras, o virus poude ser isolado em 3, dando a ultima prova de immunidade positiva.

Resumiremos estas experiencias de inoculação (2), de picada (2) e de inoculação de ovos (1):

*Cobaia 735* — Inoculação em 20.IV.932 com 1 exemplar ♀ que havia sugado 11 dias antes, durante cerca de 44 horas, a cobaia infectada 687, desde o 1.° dia de reacção febril. No 5.° dia, a temperatura sobe a 40°, sendo de 39°,5 no dia seguinte. Alguns dias depois volta á media normal, sendo reinoculada com virus activo (emulsão de cerebro da cobaia 768) decorridos 21 dias da inoculação; não reagiu com febre, mostrando-se immunizada (a cobaia 779A testemunha do virus, apresentou infecção typica).

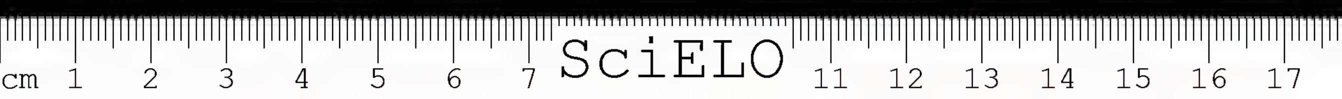
*Cobaia 736* — Inoculada em 20.IV.932 com 1 ♀ que 9 dias antes havia sugado durante cerca de 26 horas, no 4.° dia de reacção febril (40°,4), a cobaia infectada 687. Esta cobaia apresenta nos 4.° e 5.° dias reacção febril ligeira (39°,6 e 39°,5), morrendo na manhã de 7.IV.932. Emulsão de seu cerebro foi inoculada na cobaia 753. Esta apresenta reacção febril caracteristica durante 4 dias, após 3 dias de incubação, morrendo na noite do 7.° para o 8.° dia. Durante a reacção, o sangue foi inoculado na cobaia 759, que teve infecção caracteristica com reacção escrotal, sendo o virus (emulsão de cerebro), transferido para a cobaia 776 e desta, em 5.ª passagem, para a cobaia 793. Em todas as passagens a infecção se manifestou de modo caracteristico, sendo evidenciada a presença de rickettsias em esfregaços da parede peritoneal de varias das cobaias.

As experiencias por picada foram as seguintes:

*Cobaia 745* — Submettida, de 19 a 22.IV.932, á picada de um exemplar ♀ que de 9 a 11.IV.932 (cerca de 44 horas) havia sugado a cobaia infectada 687, no 1.° dia de reacção febril. A cobaia não apresentou reacção febril e não se mostrou immunizada á inoculação virulenta feita em 11.V.932. Da serie, este foi o unico resultado negativo.

*Cobaia 746* — Submettida desde 19 a 21.IV.932 (quando se desprendeu o carrapato) á picada de 1 exemplar de *Amblyomma* que havia sugado de 11 a 13.IV.932 (cerca de 26 horas) a cobaia infectada 687. Em 26.IV.932 a temperatura da cobaia attinge 40°, quando foi sangrada e inoculada a cobaia 748, continuando elevada a temperatura dos dias seguintes (40°,0; 40°,2; 40°,0; 39°,5; 39°,8 e 38°,5), morrendo o animal durante a noite de 2 para 3.V.932. A cobaia 748, inoculada com sangue colhido no 1.° dia de febre, apresenta reacção febril caracteristica (4 dias de febre, acima de 40°,0 após 3 dias de incubação), tendo sido sacrificada nessa occasião para passagem do virus e sendo feitas 4 passagens consecutivas com sangue ou emulsão de cerebro (cobaias 760, 781 e 795).





Para verificação da infectuosidade dos ovos de *Amblyomma cajennense* infectado, demonstrativa da transmissão "hereditaria" do virus, foi feita uma experiencia, com 2 cobaias.

*Cobaia 787* — Inoculada em 17.V.932 com emulsão de cerca de 200 ovos de 14 dias, postos por uma femea que havia sido alimentada 24 dias antes da postura na cobaia infectada 687. Em esfregaços de ovos, corados pelo Giemsa, foram vistos raros microorganismos semelhantes a *Rickettsia* (symbiontes?). A cobaia inoculada não apresentou reacção febril caracteristica, amanhecendo, porém, morta no 11.º dia, sendo inoculada emulsão do seu cerebro na cobaia 804. Esta apresenta reacção febril, tendo sido a seguinte a evolução da temperatura: 38°,6 (dia da inoculação); 38°,2; 38°,2; 38°,5; 40°; 39,2; 40°,5; 39°,5; 40°; 38°,2, morrendo ás 12 horas de 7.VI.932.

Em esfregaços da parede peritoneal foi verificada a presença de rickettsias (+ + +) nas cellulas mesotheliaes. Nova passagem do virus foi feita para a cobaia 810.

A outra cobaia inoculada com cerca de 50 ovos de outro *Amblyomma*, cobaia 788, não apresentou reacção febril, porém o resultado não é concludente, visto não ter sido feita passagem com sangue, nem prova de immunidade, pelo facto de a cobaia ter morrido accidentalmente e não ter sido possivel aproveitar o material.

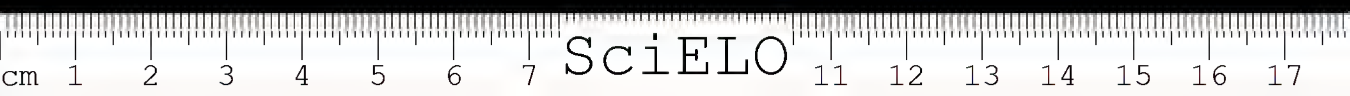
## DISCUSSÃO

Pelas experiencias assignaladas verifica-se que entre as especies de carrapatos, encontradas na zona onde se têm manifestado de preferencia os casos de typho exanthematico de S. Paulo, uma existe, o *Boophilus microplus*, que pode ser um vehiculador do virus, permanecendo este em seu organismo durante certo numero de dias, podendo-se provocar infecção na cobaia inoculando-a com uma emulsão do carrapato. Com o *Amblyomma cajennense*, outra especie commum na zona infectada, a infecção, não só poude ser transmittida experimentalmente por esse mesmo mecanismo, como tambem, o que é muito mais interessante, pela picada de um exemplar que havia anteriormente sugado uma cobaia infectada.

No *Amblyomma* o virus soffre seguramente evolução, *tambem infectando os ovos e sendo transmittido "hereditariamente" pelo carrapato.* Esta transmissão aos ovos ficou demonstrada em experiencia feita em condições excellentes para tal conclusão e tambem pelo facto de se ter verificado a presença de microorganismo semelhante a rickettsia em esfregaços de ovos da mesma postura que se mostrou infectante pela inoculação, resalvada, todavia, a hypothese de se tratar de microorganismo de outra natureza (*Ixodisymbionte*), indistinguivel morphologicamente da *Rickettsia*.

Outro facto que demonstra o papel do *Amblyomma cajennense* na transmissão da infecção experimental, e que será opportunamente objecto de estudo





mais pormenorizado, é que em cortes de exemplares infectados, corados pelo methodo de Giemsa, pudemos pôr em evidencia a presença da *Rickettsia*, descripta por um de nós como seu agente causador (2 e 3), em abundancia e com a morphologia habitual dos microorganismos deste genero quando nos transmissores intermediarios.

Dos resultados de nossos estudos experimentaes e pelo que se conhece de outras modalidades do "typhus" transmittidas por differentes carrapatos (febre maculosa das Montanhas Rochosas, febre botonosa) é licito acreditar que o *Amblyomma cajennense*, no caso do typho de S. Paulo, além de poder representar o papel de transmissor da infecção, poderia ser tambem um verdadeiro depositario do virus na natureza, em virtude de ser este transmittido "hereditariamente" pelo carrapato, explicando facilmente o caracter endemico da infecção desde que ficasse provado conservarem-se os carrapatos infectantes durante todas as phases do seu cyclo evolutivo.

Em conclusão, os nossos resultados experimentaes demonstram que, embora outras especies possam ser vehiculadores do virus, o que talvez occorra com hematophagos diversos, o carrapato *Amblyomma cajennense* deve ser incriminado como um dos mais provaveis transmissores do typho exanthematico de S. Paulo, visto transmittir a infecção experimental por picada e por ser o virus transmittido "hereditariamente" á sua prole.

## RESUMO

Em nova serie de experiencias foi investigada a transmissão experimental do virus exanthematico de S. Paulo, por especies de carrapatos, o *Boophilus microplus* e o *Amblyomma cajennense*, existentes na zona onde a infecção se tem manifestado de preferencia. Por ellas se pode concluir que, embora outras especies possam vehicular o virus, o carrapato *Amblyomma cajennense* deve ser incriminado como um dos mais provaveis transmissores do typho exanthematico de S. Paulo, pelo facto de poder parasitar o homem, de transmittir a infecção experimental pela picada e tambem por transmittir o virus "hereditariamente" á prole. Além disto, em cortes de *Amblyomma* infectado verificou-se a presença, em grande abundancia em certas localizações, de microorganismos cuja morphologia não se distingue da das rickettsias quando nos vectores intermediarios. Estes microorganismos, no caso em apreço, representam a *Rickettsia brasiliensis* nesse transmissor.

## ABSTRACT

In this new series of experiments there has been investigated the experimental transmission of the virus of the São Paulo typhus by certain species of ticks, such as *Boophilus microplus* and *Amblyomma cajennense*, which are abundant

in the region where the infection is endemic. From the results obtained it seems clear that, although other forms may serve as a "reservoir" to the virus, the tick *Amblyomma cajennense* must be considered as the most probable carrier of the São Paulo typhus, because it is able to parasite man, transmit the experimenttal infection by sting and also transmit its virus "hereditarily". Moreover, in sections of infected *Amblyommata* there has been verified the presence, sometimes abundant in certain sites, of a microorganism bearing the same morphology as that of rickettsiae in the intermediate hosts. These microorganisms, in the present case, represent the *Rickettsia brasiliensis* in that carrier.

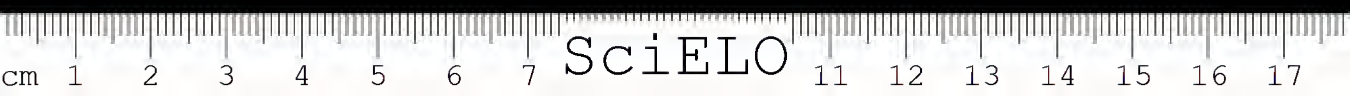
---

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Monteiro, J. Lemos; Fonseca, F. da & Prado, A.* — Brasil-Medico XLVI (3) :49.1932.
2. *Monteiro, J. Lemos* — Brasil-Medico XLV (35) :805.1931; C. R. Soc. Biol. CVIII (30) :521.1931.
3. *Monteiro, J. Lemos* — Brasil-Medico XLVI (17) :385.1932.

(Trabalho das Secções de Virus e de Parasitologia do Instituto Butantan, apresentado á Soc. Biologia S. Paulo, 8-VII-1932).





614.526

# TYPHO EXANTHEMATICO DE S. PAULO

## XII. Sobre um virus isolado de ratos da zona urbana da cidade e suas relações com o do typho de S. Paulo

POR

J. LEMOS MONTEIRO E FLAVIO DA FONSECA

Os resultados das recentes pesquisas sobre infecções do grupo das febres exanthematicas observadas ultimamente em diversas partes do mundo, têm já contribuido com um contingente valioso de esclarecimentos sobre algumas dellas consideradas isoladamente. Encarado, porém, o problema em seu conjuncto, isto é, consideradas as relações reciprocas das diversas formas até hoje descobertas e, particularmente, as relações que apresentam essas diversas modalidades com a infecção typo do grupo, o typho exanthematico do velho mundo, verifica-se como é complexo este problema.

O typho epidemico, classico, do velho mundo, predominando no inverno, tem como intermediarios unicos os piolhos (*Pediculus humanus*, var. *corporis* Deeger, piolho do corpo, e *Pediculus humanus*, var. *humanus* Linneu, piolho da cabeça, da raça branca, segundo a nomenclatura aconselhada por Ewing), em cujo intestino o virus se multiplica. O typho endemico, melhor estudado na America do Norte (Mexico e Estados Unidos), manifestando-se, porém, tambem em outros paizes, predomina no verão, sendo os transmissores mais incriminados certos pulicideos, em virtude dos trabalhos de Dyer, Rumreich e Badger (1) e Kemp (2), bem como o acaro *Liponissus bacoti* (Hirst), accusado por Dove e Shelmire (3).

Ao passo que no typho exanthematico classico o proprio homem é considerado, até agora, como o unico depositario natural do virus, explodindo a infecção sob forma epidemica desde que as condições de proliferação do transmissor sejam favoraveis, no typho endemico, ao contrario, o papel do depositario do virus na natureza é representado pelos ratos, sendo excepcional a infecção humana, dependente principalmente da fauna local de ectoparasitas murinos. O papel dos ratos como depositarios do virus na natureza foi demonstrado por Mooser, Castañeda e

Zinsser (4). inoculando, em cobaias, cerebros de ratos capturados na cidade do Mexico, e isolando assim um virus identico ao oriundo de casos humanos da infecção, como o asseveraram á luz das provas experimentaes do comportamento do virus em cobaias e das de immunização cruzada. O mesmo virus foi tambem isolado de pulgas capturadas sobre ratos pelos auctores acima citados, sendo o caracter mais typico da infecção experimental das cobaias pelo typho endemico americano, além da reacção febril, a apparição da reacção inflammatoria escrotal com presença de *Rickettsia mooseri* Monteiro, 1932, nas cellulas mesotheliaes da *tunica vaginalis.*

Conhecidos estes factos e sabido, pelas experiencias de Mooser e Dummer (5), que o piolho pode transmittir experimentalmente o typho endemico norte-americano, seria talvez licito perguntar si, tal como succede no caso do typho classico do Velho Mundo, não poderá o proprio homem representar em determinadas condições o papel de depositario do virus, prescindindo neste caso a infecção da parte do cyclo representado pelo rato e pelas pulgas e adquirindo um caracter epidemico, transmittido de homem a homem pelo piolho. Analogamente, não seria talvez descabido emittir a hypothese da existencia, no caso do typho exanthematico classico, de outros depositarios naturaes do virus além do homem (os ratos, por exemplo) e de outros transmissores além dos piolhos, o que daria á infecção um caracter endemico.

Embora a epidemiologia conhecida das supracitadas infecções não pareça corroborar as hypotheses emittidas (*), não devemos todavia esquecer que estamos ainda no inicio das investigações desses assumptos e que o problema, já tão complexo neste estado, assume ainda complexidade maior devido aos recentes trabalhos de Mercandier e Pirot (6) em Toulon, e de Lepine (7 e 8) em Athenas e Beyrouth, os quaes, inoculando cerebro dos ratos dessas localidades em cobaias, isolaram um virus que apresenta os caracteres experimentaes do virus do typho endemico americano (reacção escrotal), bem como ao trabalho de Lepine, Caminopetros e Pangalos (9), que isolaram o mesmo virus em pulgas dos ratos de Athenas e do Pireo. Nas regiões estudadas existe, além da "febre botonosa" (transmittida pelo carrapato do cão, o *Rhipicephalus sanguineus* e causada pela *Rickettsia conori* Brumpt, 1932), uma outra febre exanthematica, cujo virus, isolado de casos humanos, determina experimentalmente uma infecção de symptomatologia diversa da obtida com aquelle virus murino, não tendo ainda sido possivel estabelecer com rigor as relações dessa infecção com o typho endemico americano e com o typho exanthematico classico.

---

(*) A dualidade das infecções (epidemica e endemica) defendida já por um de nós em trabalhos anteriores (Brasil Medico XLVI(16):361.abril 1932; C. R. Soc. Biol. CX(24):858.julho 1932, sessão de 8-IV-1932), foi recentemente acceita e igualmente justificada por Ch. Nicolle (Arch. Inst. Pasteur de Tunis XXI(1):32.julho 1932), incontestavel auctoridade no assumpto e, ha pouco, um dos maiores defensores da unicidade do typhus.





Verificações recentes devidas a Brumpt (10) vieram ainda uma vez complicar o problema, pois o sabio parasitologista francês isolou do cerebro de ratos de Paris, onde não existe a infecção endemica, um virus que, experimentalmente, tambem se approxima do virus do typho endemico americano, apresentando, segundo affirma, os animaes inoculados a mesma reacção febril e a cobaia inflammação escrotal, não tendo, porém, sido possivel a Brumpt pôr em evidencia a presença de Rickettsias nas cellulas mesotheliaes da *tunica vaginalis*. Procurando estabelecer as relações entre o typho exanthematico classico e o typho endemico, elle emittiu então a hypothese de ser a affinidade analoga á existente entre a variola e a vaccina: conferem immunidade cruzada, mas sua identidade só poderia ser provada por novas e numerosas pesquisas.

Mais recentemente ainda, conclue Lepine (11), baseado em provas de immunidade cruzada entre os virus dos typhos epidemico, endemico humano e murino (enzootico), que nas rickettsioses, pelo menos no typho murino, devem existir raças pathogenicas que mantenham relações de grupo, comportando-se, porém, como infecções diversas.

Pela rapida resenha que fizemos dos principaes trabalhos, todos muito recentes, que têm vindo contribuir para o conhecimento das infecções deste grupo, poder-se-á, em rapido golpe de vista, ter uma idéa da complexidade do problema tal como se nos apresenta no momento, com falta de varios elos na cadeia que deverão articular todas as observações citadas para formar então um todo mais homogeneo e comprehensivel.

— No actual trabalho apresentaremos mais alguns dados que, opportunamente, quando já houver sufficiente experiencia accumulada, virão concorrer para a intelligencia do assumpto.

Em trabalho anterior (12) relatámos as pesquisas levadas a effeito com o fim de saber si os ratos poderiam representar algum papel como depositarios do virus do typho exanthematico de S. Paulo, tendo nessa occasião assignalado os resultados obtidos, quer na zona rural ou suburbana da cidade, onde se manifesta de preferencia a infecção, quer na zona urbana, onde têm sido raros os casos. Em outro trabalho foram relatados (13) os resultados das pesquisas levadas a effeito para o conhecimento da fauna de ectoparasitas desses roedores. Dos ratos da zona rural, só excepcionalmente parasitados por pulicideos, não conseguimos isolar o virus em 128 exemplares examinados, apenas tendo ficado evidenciada a immunidade de cobaias inoculadas com 2 grupos de cerebros. Por este e por outros motivos então assignalados, embora admittissemos o papel dos ratos como depositarios, achavamos que outros animaes poderiam representar esse papel, o que tambem estava de accordo com resultados, não só de pesquisas anteriores (14) sobre a transmissão experimental do virus do typho de S. Paulo por *Ixodidae*, principalmente pelo *Amblyomma cajennense*, como de outras mais recentes e concludentes a respeito do papel deste carrapato (15).

Tivemos, por outro lado, occasião de demonstrar a existencia de um virus, isolado de 2 grupos de ratos da zona urbana da cidade intensamente parasitados por pulicideos. Aventámos nessa occasião a hypothese da dualidade da infecção, com a) — *uma modalidade rural,* transmittida por *Ixodidae* ou outros acarianos e com b) — *uma modalidade urbana,* transmittida por *Pulicidae*, hypothese esta cuja confirmação estaria na dependencia de estudos ulteriores.

O presente trabalho versará sobre o comportamento experimental do virus isolado do cerebro de ratos da zona urbana da cidade e das relações deste virus com o isolado dos doentes provenientes da zona onde o mal se tem demonstrado sob forma endemica, isto é, a zona rural ou suburbana da cidade.

## COMPORTAMENTO EXPERIMENTAL

VIRUS A — *Cobaia 529* — Inoculada a 30.XI.931 com emulsão de cerebro dos ratos 132 e 133 (*Epimys norvegicus*) capturados na rua Florida n.° 1, de onde havia sahido um doente com diagnostico de typho exanthematico. Este caso, um dos raros observados na zona urbana da cidade, revelou-se benigno, restabelecendo-se o doente. A cobaia inoculada, cuja media de temperatura era de 38°6, antes da inoculação e nos primeiros dias que a esta se seguiram, apresentou depois de 12 dias reacção febril pouco accentuada, attingindo 39°4. Nesta occasião, em 12.XII.931, foi sangrada, sendo inoculada com seu sangue a cobaia 544. Nos dias que se seguiram, a temperatura manteve-se na mesma media, attingindo ás vezes 39°8 ou mostrando-se em media normal. Em 4.I.932, depois de 35 dias da inoculação, foi inoculada com o virus do typho exanthematico de S. Paulo, virus de passagem (emul. cerebro da cobaia 561), que determinou, após 4 dias, reacção de 40°, morrendo a cobaia na noite de 10 para 11 ou 7 dias após a 2.ª inoculação.

*Cobaia 544* — Inoculada em 12.XII.931 com 4 cc. de sangue da cobaia 529, por via peritoneal. A temperatura manteve-se em media normal (38°4-38°8) durante 12 dias; no 13.° dia apresenta 39°2; no 14.°, 40°1; no 15.°, 40°; no 16.°, 39°5, sendo sangrada e inoculada a cobaia 559. Nos dias seguintes mantem-se acima de 39°, apresentando ainda 40° por 2 dias. Em 4.I.932 foi reinoculada com o virus do typho de São Paulo (emulsão cer. da cobaia 561), apresentou reacção febril, depois de incubação de 4 dias, resistindo, porém, á infecção.

*Cobaia 559* — Inoculada em 28.XII.931 com 4 cc. de sangue da cobaia 544. A marcha da evolução da infecção desta cobaia foi a seguinte, relativamente á temperatura: 1.° dia, inoculação, 38°4; 2.°, 38°5; 3.°, 38°8; 4.°, 39°5; 5.°, 39°4; 6.°, 39°4; 7.°, 39°9; 8.°, 39°0; 9.°, 41°0; 10.°, 39°5; 11.°, 41°0. Neste dia, 7.I.932 a cobaia foi sacrificada, para pesquisa de rickettsia no peritoneo. Antes, com seu sangue, foi inoculada a cobaia 573 e com emulsão de cerebro a cobaia 574.

A pesquisa de rickettsia foi negativa. Os resultados das passagens foi o seguinte:

*Cobaia 573* — Inoculada em 7.I.932 com 4 cc. de sangue de cobaia 559. Depois de alguns dias, a temperatura elevou-se pouco acima da media normal, ou manteve-se nessa media, somente attingindo 40° em 3.II.932 (27 dias após a inoculação). A cobaia amanheceu morta em 17.III.932, mostrando á necropsia o baço bastante augmentado de volume. Emulsão do cerebro foi inoculada na cobaia 647.

*Cobaia 647* — Inoculada em 17.III.932 com emulsão de cerebro da cobaia 573. Após somente 48 horas (em 19.III.932) a temperatura attingiu 40°5, sendo nos dias seguintes de 40°3; 40°5; 40°5; 41°0; 40°3, a cobaia morrendo na tarde de 25.III.932. Com a temperatura de 41°0, em 23.III.932, foi sangrada, sendo inoculada a cobaia 656. A' necropsia observou-se baço augmentado, com adherencias e com exsudato fibrinoso.

*Cobaia 574* — Inoculada em 7.I.932 com emulsão de cerebro da cobaia 559. Apresentou mais ou menos a mesma evolução da cobaia 573. Somente depois de 26 dias, a temperatura attingiu 40°0, sendo nos dias seguintes de 40°5 e 40°0, em 4.II.932, quando foi sacrificada inoculando-se com emulsão de seu cerebro a cobaia 600. Esta ultima apresentou, como a cobaia 647, evosução mais rapida da infecção, attingindo a temperatura a 40°2 no 6.° dia, porem, pela necropsia e exame microscopico, verificou-se estar infectada com *Toxoplasma caviae*. (*)

*Cobaia 656* — Inoculada em 23.III.932 com 3 cc. de sangue da cobaia 647. Em 26, a temperatura attingiu a 40°3, sendo nos dias seguintes de 40°2; 39°6; 40°5; 40°1; 40°0 (quando foi sangrada e inoculada a cobaia 671); 39°6; 39°0, morrendo na tarde de 3.IV.932.

*Cobaia 671* — Inoculada em 31.III.932 com 3 cc. de sangue da cobaia 656. Após incubação de 4 dias, em 4.IV.32 a temperatura subiu a 40°5, sendo nos

(*) Grande cuidado é necessario em experimentações desta natureza ao attribuir as reacções verificadas nas cobaias á acção de um virus exanthematico, fazendo-se mister excluir, em primeiro logar, a hypothese de outra infecção concomitante, possivel de se observar no decorrer de experiencias demoradas, nas quaes são utilizadas muitas centenas de cobaias, animaes sujeitos a salmonelloses e outras doenças. Tivemos opportunidade de observar varias vezes infecções determinadas por um protozoario, o *Toxoplasma caviae*, surgindo no decurso de experiencias, exaltando-se a infecção latente por influencia da inoculação virulenta, podendo determinar o apparecimento de symptomas que pesquisadores menos prevenidos poderiam attribuir á só influencia do virus inoculado. Trabalhando com ratos, cujo material vai ser inoculado em cobaias, maiores ainda devem ser as precauções tomadas ao interpretar as reacções dos ultimos, á vista da possibilidade de correrem ellas por conta de infecções determinadas por agentes (*Leptospira icterohemorrhagiae*, por exemplo) que nada têm que ver com o virus do typhus.

dias seguintes de 40°2; 40°0; 40°0 quando foi sacrificada, para diversas pesquisas e outras passagens. Na necropsia, observou-se o baço augmentado, com adherencias e exsudato fibrinoso.

Esta ultima cobaia corresponde a 7.ª passagem do virus. Foram continuadas as passagens achando-se actualmente (outubro de 1932) o virus na sua 14.ª passagem.

Dos resultados acima assignalados, sem necessidade de citar os das passagens que se seguiram, verificámos, em resumo, o seguinte: o virus isolado dos ratos mostra-se pouco pathogenico para a cobaia, principalmente nas primeiras passagens, quando a reacção febril determinada é pouco accentuada e longa a incubação. A' medida que as passagens se effectuam, porém, a virulencia do virus se exalta, verificando-se diminuição do periodo de incubação e mais accentuada a reacção febril. As cobaias não apresentaram nunca reacção inflammatoria escrotal. Como lesão verificavel á necropsia, apenas um augmento do baço, muitas vezes adherente e coberto por exsudato fibrinoso.

As pesquisas de rickettsias nas cellulas da parede peritoneal nos animaes inoculados e sacrificados, assim como em outros inoculados com esse fim, foram sempre negativas nas primeiras passagens, sendo positiva em raras cobaias em passagens subsequentes deste virus murino, como se verifica entre outras, na observação seguinte: *Cobaia* 817 inoculada em 16.VI.932 com virus murino A, da 13.ª passagem (emul. de cer. da cobaia 811): após incubação de 4 dias, apresentou no 5° reacção de 39°8, morrendo durante a noite de 20 para 21. Pela necropsia o baço apresentava-se augmentado de volume, com exsudato fibrinoso e nos preparados feitos com raspagem da parede peritoneal foram observadas numerosas cellulas contendo rickettsias.

VIRUS B — De outro grupo de ratos da mesma procedencia verificámos outro virus de identico comportamento, com o qual foram realizadas 4 passagens somente. Daremos abaixo a evolução da infecção em 2 cobaias, da 1.ª e 3.ª passagens.

*Cobaia 539* — Inoculada em 11.XII.931 com emulsão de cerebro dos ratos 138 a 139 (*Epimys norvegicus* e *Mus* sp.) provenientes da rua Florida 1. Depois de uma incubação de 14 dias, em 25.XII.931 a temperatura attingiu a 40°0, sendo em 26, de 40°5; e, 27, 39°8; em 28, 40°5 (sangria e inoculação da cobaia 558); 29, de 39°8; 30, de 38°7; 31, de 40°0, em 1 de 38°8, mantendo-se nesta media, nos dias seguintes. Inoculada com o virus do typho exanthematico (virus rural) em 4.1.932 (emulsão de cerebro da cobaia 561), amanheceu morta no dia 8, sem ter tido elevação thermica. A cobaia 558 que foi inoculada com sangue da 539 em 28.XII.931, morreu na manhã de 2.1.932, sem ter tido elevação thermica, talvez pelo facto de a morte ter sido rapida e devida a qualquer factor acciden-

tal. Mesmo assim, a emulsão do seu cerebro foi inoculada na cobaia 566, para passagem do virus.

*Cobaia 566* — Inoculada em 2.I.932 com emulsão do cerebro da cobaia 558. Após incubação de 14 dias, em 16.I.932 a temperatura subiu a 39°8, sendo nos dias seguintes de 39°7; 40°5; 39°3 (sangria e inoculação na cobaia 584); 39°4; 39°5; 39°0; 39°0; 39°1; 41°0; 40°0; 39°5; 40°3; (sangria e inoculação da cobaia 591); 39°0, mantendo-se nesta media, pouco acima da normal (38°5 — 38°8). Em 2.II.932 foi reinoculada com o virus do typho de S. Paulo (rural), tendo tido reacção febril, um pouco atypica (com exacerbações), morrendo na tarde de 16.III.932.

*Relações do virus murino com o do typho exanthematico de S. Paulo* — As relações entre o virus isolado dos ratos da zona urbana da cidade (virus murino) com o do typho exanthematico de S. Paulo, isolado de doentes provenientes da zona rural e conservado por passagens successivas em cobaias foram pesquisadas por provas de immunização cruzada.

Pelos resultados acima assignalados observa-se logo que as cobaias que resistem á infecção pelo virus murino não se mostram immunizadas em relação ao virus do typhus de S. Paulo.

Por outro lado, cobaias immunizadas com o virus deste typhus, reagem á inoculação do virus murino. Dos varios ensaios feitos neste sentido, assignalaremos apenas o que se segue, com a respectiva testemunha.

*Cobaia 597* — Immunizada, após ter sido inoculada com o virus do typho exanthematico de S. Paulo representado por emulsão de cerebro da cobaia 615, em 25.II.932; teve reacção febril caracteristica, resistindo.

Após 41 dias, em 6.IV.932, foi inoculada com o virus murino, correspondente á 7.ª passagem (2 cc. de sangue da cobaia 671). A evolução da temperatura da cobaia foi a seguinte: em 6.IV.932, dia da inoculação, 39°1; em 7, 39°0; 8, 39°5; 9, 39°3; 10, 40°0; 11, 40°5; 12, 40°0; 13, 39°5; 14, 40°0; 15, 39°5; 16,39°5; amanhecendo morta no dia 17, apresentando baço augmentado de volume.

*Cobaia 689*, como testemunha da anterior, inoculada em 6.IV.932 com 2 cc. de sangue da cobaia 671. A marcha da temperatura foi a seguinte: em 6.IV.932, dia da inoculação, 38°0; em 7, 38°8; 8, 38°3; 9, 39°0; 10, 40°0; 11, 39°5; 12, 40°0; 13, 39°9; 14, 40°0; 15, 39°5; 16, 39°5, mantendo nos dias seguintes entre 38°5 a 39°3, morrendo na noite de 22 para 23.

*Por estes resultados experimentaes, verifica-se que esses dois virus differem, não somente pelo comportamento experimental em relação á cobaia, como pelas provas de immunidade cruzada.*

## DISCUSSÃO

Deprehende-se dos resultados dos estudos experimentaes que acima ficam expostos que os dois virus, o de origem humana, isolado de doentes de typho exanthematico de S. Paulo, e o de origem murina differem á luz das seguintes provas:

a) pela immunização cruzada;

b) por seu differente comportamento experimental (reacção febril) nas cobaias inoculadas;

c) pela ausencia de reacção escrotal em cobaias inoculadas com o virus murino e sua relativa frequencia nas injectadas com o virus humano;

d) pela maior facilidade de, no de origem humana, se descobrirem rickettsias nas cellulas mesotheliaes da parede peritoneal de cobaias inoculadas, a contrastar com a relativa difficuldade dessa verificação nas cobaias inoculadas com material de origem murina e isto só depois de algumas passagens.

A' luz dessas differenças e no estado actual de nossos conhecimentos parece justificavel a criação de uma designação áparte para a *Rickettsia* encontrada nos animaes inoculados com o virus de origem murina. Para isso propomos, provisoriamente, o nome de *Rickettsia muricola*, sp. n., forma que se poderia facilmente identificar pelas propriedades biologicas acima registadas, que bastam, por si sós, para distinguil-a das demais especies pathogenicas de *Rickettsia* até agora reconhecidas, especialmente da *Rickettsia mooseri* Monteiro, 1932, responsavel pelo typho endemico, do qual, conforme vimos, o rato tambem é depositario.

De qualquer maneira, mais uma vez fica justificada a complexidade que attribuimos no inicio deste trabalho ao problema das relações existentes entre os diversos virus exanthematicos, mesmo porque o nosso virus murino tambem apresenta caracteres divergentes dos virus de identica origem, isolados por Mercandier e Pirot (6), Lepine (7 e 8), Brumpt (10), etc.. Com effeito, os virus isolados por estes pesquisadores apresentam todos elles affinidades com o typho endemico norte-americano, provocando reacção escrotal na cobaia, ao passo que o virus por nós isolado de ratos mais se approxima, pelos caracteres da infecção das cobaias, do typho classico do Velho Mundo.

No pé em que se encontra o problema seria licito perguntar, *como já o fizemos de um modo mais geral no inicio deste trabalho*, si, não occorrerá, entre nós, uma outra modalidade de febre exanthematica, de origem murina e de cuja transmissão se poderiam incriminar os pulicideos. Esta hypothese, á qual somos levados pelos resultados das pesquisas experimentaes do virus por nós isolado dos ratos, é, até certo ponto, reforçada pela positividade, relativamente frequente, da reacção de Weil-Felix em individuos aqui residentes. Emittindo-a, fazemol-o sob

as reservas exigidas ainda pela falta de uma experimentaçãô mais abundante, incluidas as provas de immunidade cruzada entre o virus por nós isolado e os das demais febres exanthematicas.

## CONCLUSÕES

I. De ratos procedentes da zona urbana da cidade de S. Paulo foi isolado um "virus", sendo estudado o seu comportamento experimental em relação á cobaia.

II. Pelo seu comportamento experimental e por provas de immunidade cruzada, fica patente que este virus murino differe do isolado de doentes de typho exanthematico de S. Paulo, infecção manifestada de preferencia em zonas suburbanas e ruraes e cujo comportamento experimental foi já estudado por um de nós em publicações anteriores. Esse virus deve corresponder a uma especie nova de rickettsia que receberia o nome de *Rickettsia muricola*, sp. n..

III. Somente novos estudos experimentaes, convenientemente encaminhados, mostrarão as possiveis relações do virus de origem murina, existente entre nós, com o das diversas formas do "typhus", e tornarão, desse modo, possivel a elucidação de importantes problemas relacionados com a epidemiologia das infecções exanthematicas em S. Paulo.

## ABSTRACT

From rats captured in the urban section of São Paulo City there has been isolated a "virus", the experimental behaviour of which, on inoculation into guinea pigs and in cross immunity tests, has shown that it is distinct from the "virus" previously isolated from patients of the São Paulo typhus. This "virus" must correspond to a new species of rickettsia to be named *Rickettsia muricola*, sp. n., the relationship of which with those found in various types of typhus fevers depending on further investigations that may also throw some light upon certain epidemiological features of the São Paulo typhus.

---

## BIBLIOGRAPHIA


1. *Dyer, R. E.; Rumreich, A. & Badger, L. F.* — Publ. Health Rep. XLVI :334.1931.
2. *Kemp, H. A.* — J. Amer. Med. Assn. XCVII(11) :775.1931.
3. *Dove, W. E. & Shelmire, B.* — J. Amer. Med. Assn. XCVII(21) :1506.1931.
4. *Mooser, H.; Castaneda, M. R. & Zinsser, H.* — J. Amer. Med. Assn. XCVII(4) :231.1931.
5. *Mooser, H. & Dummer, C.* — J. Inf. Dis. XLVI(2) :170.1930.
6. *Mercandier, M. & Pirot, R.* — C. R. Acad. Sc. CXCIV(4) :399.1932.
7. *Lépine, P.* — C. R. Acad. Sc. CXCIV(4) :401.1932.
8. *Lépine, P.* — C. R. Soc. Biol. CIX(12) :1072.1932.
9. *Lépine, P.; Caminopetros, J. & Pangalos, G.* — C. R. Soc. Biol. CIX(9) :710.1932.
10. *Brumpt, E.* — Bull. Acad. Med. CVII(10) :356.1932.
11. *Lépine, P.* — C. R. Soc. Biol. CIX(14) :1244.1932.
12. *Monteiro, J. Lemos; Fonseca, F. da & Prado, A.* — Brasil Medico XLVI(9) :193.1932.
13. *Fonseca, F. da & Prado, A.* — Rev. Med. Cir. Brasil XL(3) :65.1932.
14. *Monteiro, J. Lemos; Fonseca, F. da & Prado, A.* — Brasil Medico XLVI(3) :49.1932.
15. *Monteiro, J. Lemos & Fonseca, F. da* — Com. Soc. Biol. S. Paulo 8.VII.32 et Brasil Medico XLVI(48) :993.1932.


**(Trabalho das Secções de Virus e de Parasitologia do Instituto Butantan, outubro de 1932).**

# ESTUDOS SOBRE LACERTILIOS NEOTROPICOS

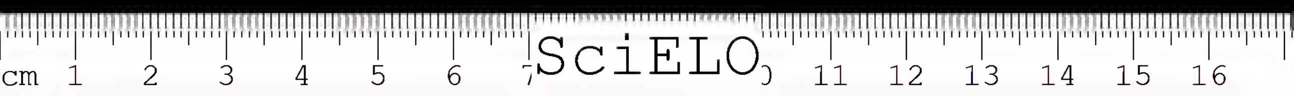
POR

AFRANIO DO AMARAL

---

*(com 55 gravuras no texto)*

---


SciELO

598.11:591.9:981

# ESTUDOS SOBRE LACERTILIOS NEOTROPICOS

## I. Novos generos e especies de lagartos do Brasil

POR

AFRANIO DO AMARAL

### INTRODUCÇÃO

Poucos grupos representativos da fauna neotropica ha que não estejam a exigir uma revisão meticulosa, immediata. Dentre elles sobreleva, por sua indiscutivel importancia na phylogenese geral, a sub-ordem dos Lacertilios, cuja representação nesta região chorologica é das mais ricas e variadas. Ainda recentemente, C. E. Burt e M. D. Burt (*in* Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. LXI, pg. 227, 1931) mostravam que, desde o apparecimento do Catalogo de Boulenger sobre todos os lagartos da collecção do Museu Britannico (1885-1887), não se têm publicado outros estudos systematicos geraes sobre as formas sul-americanas desse grupo, embora, desde aquella epoca até a presente, se tenha realizado uma immensidade de pesquisas analyticas em varias collecções. Dessa analyse tem resultado o reconhecimento de muitas formas, algumas das quaes, no opinar de Burt, se devem considerar invalidaveis.

Concorrendo com essa opinião, baseada no paciente estudo comparativo de material existente nas principaes collecções norte-americanas e no exame critico da extensissima bibliographia sobre o assumpto, adoptei no texto do presente trabalho, que representa a primeira contribuição local ao conhecimento dos Lacertilios do Brasil, as alterações nomenclaturaes e a ordem phylogenetica seguidas pelos dois referidos especialistas.

Cumpre-me assignalar que, ao estudo desse grupo de repteis fui levado pela necessidade da exacta identificação de especies, assim hospedadoras de parasitas de possivel interesse em pathologia, como talvez sujeitas a infecções por germes capazes de contaminar o homem. Effectivamente, os hemo-flagellados, sobretudo, representariam o interesse medico no primeiro caso, enquanto, na segunda instancia, nos bacillos acido-resistentes residiria o principal motivo de cogitação no momento

## Fam. AMPHISBAENIDAE

### Gen. **Amphisbaena** LINNEU

Conforme occorre com a generalidade de formas de habitos subterraneos, a existencia de mutações entre os Amphisbenideos é das mais frequentes, de sorte que um exame critico desse grupo revela, para logo, a necessidade de uma revisão meticulosa, capaz de separar as especies imperfeitamente definidas daquellas que podem resistir á analyse comparativa. Dentre os caracteres usados nas descripções parece que apenas o numero e proporção dos segmentos somaticos, a extensão relativa da cauda e a disposição de certos escudos cephalicos têm valor realmente especifico, não passando, muitas vezes, de meras variações raciaes ou mesmo individuaes o comprimento relativo das suturas e a integridade ou não de certos outros escudos cephalicos. Assim, por exemplo, considerando-se a essa luz a chave synoptica proposta por Boulenger (Cat. Liz. Brit. Mus. II, pg. 435-37, 1885), comparativamente com series de exemplares, classificaveis na secção *B, I, a,* logo resalta a insufficiencia dos caracteres apontados para a differenciação de certas especies e, com especialidade, de *A. vermicularis* Wagler, *A. darwinii* D. & B. e *A. plumbea* Gray. Estas seriam antes meras expressões raciaes de uma mesma forma: *A. vermicularis vermicularis* (Wagler), propria aos districtos quentes e sub-aridos ao Norte, Leste e Centro do Brasil, desde o Amazonas até Pernambuco, S. Paulo e Minas Geraes (o typo de *A. mitchelli* Procter, 1923 seria apenas uma variação individual desta subespecie); *A. vermicularis darwinii* (D. & B.) distribuida pelos districtos temperados e humidos do sul do Brasil, desde S. Paulo e Matto Grosso até o Rio Grande do Sul e depois até ao Uruguay e o Norte e Leste da Argentina (*A. dubia* Müller, 1923 seria synonyma desta subespecie); e *A. vermicularis plumbea* (Gray), restricta á zona arida e elevada do Noroeste da Argentina até a Bolivia.

A presença de mutações seria sobremodo frequente na especie *A. brasiliana* (Gray) que, na chave de Boulenger, se encontra ligada a formas antilhenses, embora pela morphologia geral se approxime de preferencia do grupo *vermicularis,* do qual sem duvida não se podem apartar muitos exemplares portadores da frequente variação dos escudos nasaes.

A acreditar-se numa possivel differenciação da forma primitiva, porventura representada pela raça hoje occorrente na zona tropical do Brasil, teriamos que a subespecie *darwinii,* propria de zonas humidas, se caracterizaria pelo numero mais baixo de anneis sobre o corpo (corpo mais curto), enquanto a subespecie *plumbea,* oriunda de districtos aridos, se distinguiria pelo numero mais alto de anneis somaticos (corpo mais comprido), occupando a raça typica uma posição perfeitamente intermediaria.

---

Ao estudar os exemplares de Amphisbenideos da collecção do Museu Paulista, comparativamente com os innumeros outros existentes na collecção do Instituto Butantan, fui levado, não somente a fazer as considerações que acabo de expor a respeito da possibilidade de se virem a effectuar novas fusões entre as especies tidas por muitos auctores como validas, mas tambem a considerar como perfeitamente caracterizaveis em especies á parte os dois exemplares que passo a descrever:

**Amphisbaena brachyura**, sp. n.

(Figs. 1 — 3)

*Definição* - - Focinho largo, arredondado e algo truncado. Cauda muito curta, da grossura do corpo. Rostral moderada, sub-pentagonal; nasaes bastante grandes, formando uma longa sutura; 1 par de pre-frontaes grandes, seguido de outro par de frontaes estreitas e de 1 par de occipitaes mais largas do que as frontaes (5:3) e seguidas de 1 serie de placas menores; olho distinguivel sob a ocular seguida de uma grande temporal; 3 supralabiaes, mais ou menos sub-eguaes; 3 infra-labiaes, a posterior menor e a mediana maior; mental anterior quadrangular, antes curta, seguida mesialmente por 1 mental maior, sub-pentagonal, contigua posteriormente a 5 escamas separando entre si 1 par de mentaes postero-lateraes. 230 aneis sobre o corpo e 8 sobre a cauda, os segmentos constitutivos bem mais longos do que largos no dorso e lados, tornando-se gradualmente quadrados (em cada fila para-mediana) até 1 ½ vez mais largos do que longos nas 2 filas medianas ventraes; ao meio do corpo, cada anel contem 22 segmentos na poção dorsal e 22-23 segmentos na poção ventral. Linha lateral distincta. 8 escudos anaes: 6 poros pre-anaes, bem visiveis.

*Coloração* — Pardacenta em cima e ligeiramente mais clara em baixo.

*Dimensões* — Comprimento até o anus 280 mm.
" da cauda 10 mm.
Circumferencia do corpo 21 mm.

*Holotypo* — No. 1248. B. na collecção do Museu Paulista, colhido em 1913, em Maceió, Alagoas, Brasil, pelo dr. Bach.

*Nota*: Esta especie distingue-se de todas as demais e especialmente de *A. mertensii* Strauch, de que parece affim, principalmente pela proporção dos escudos occipitaes e pela curteza da cauda (reduzido numero de aneis caudaes).

**Amphisbaena albissima**, sp. n.

(Figs. 4 — 6)

*Definição* — Focinho arredondado, algo truncado e levantado. Cauda muito curta, mais fina do que o corpo. Rostral moderada, sub-pentagonal; nasaes bastante grandes, formando uma longa sutura; 1 par de pre-frontaes grandes, segui-

do de 1 par de frontaes antes estreitas e de 2 pares de occipitaes, dos quaes o anterior, maior, formado de 2 placas 2 vezes tão largas quanto as frontaes (6:3), o posterior formado de 2 placas sub-quadrangulares, tão grandes quanto as frontaes sub-triangulares e seguidas immediatamente de pequenas escamas semelhantes ás do dorso; olho distinguivel sob a ocular seguida de uma grande temporal; 3 grandes supra-labiaes, a mediana algo menor; 3 infra-labiaes, a posterior menor e a mediana maior; mental anterior sub-quadrangular, antes alongada, seguida mesialmente por 1 mental maior, sub-pentagonal, contigua posteriormente a 3 escamas separando entre si o par de mentaes post-lateraes. 237 aneis sobre o corpo e 9 sobre a cauda, os segmentos constitutivos bem mais longos do que largos no dorso e lados, tornando-se gradualmente quadrados (em cada fila para-mediana) até 1 ¼ vez mais largos do que longos nas 2 filas medianas ventraes; ao meio do corpo, cada anel contem 22 segmentos na poção dorsal e 22 na poção ventral. Linha lateral distincta. 10 escudos anaes; 6 poros pre-anaes, bem visiveis.

*Coloração* — Creme esbranquiçada em todo o corpo

*Dimensões* — Comprimento até o anus 310 mm.
" da cauda 16 mm.
Circumferencia do corpo 30 mm.

*Holotypo* — No. 1260, na collecção do Museu Paulista, procedente de Piracicaba, São Paulo, Brasil.

*Nota*: Esta especie parece affim de *A. brachyura* Amaral e *A. mertensii* Strauch, distinguindo-se da primeira pela conformação da cauda, numero de escudos occipitaes e proporção de escamas medio-ventraes, e da segunda, pelo numero de escudos occipitaes e proporção das escamas medio-ventraes.

## Fam. GECKONIDAE

### Gen. **Gonatodes** Fitzinger

### **Gonatodes spinulosus**, sp. n
(Figs. 7—8)

*Definição* — Cabeça antes alongada; focinho obtusamente pontudo, tão longo quanto a distancia oculo-auricular e duas vezes tão longo quanto o diametro da orbita; fronte um tanto convexa, ouvido arredondado e muito pequeno. Corpo, membros e cauda curtos, membro posterior, trazido á frente, attingindo a axilla. Focinho coberto de granulos sub-ovaes e diminuindo de tamanho para trás; rostral 2 ½ vezes tão larga quanto alta, com 1 incisura mediano-superior; narina entre a rostral, a inter-nasal e 3 pequenas escamas post-nasaes; um dos granulos

supra-ciliares medianos erecto, em forma de espinho ponteagudo; 5 supra-labiaes, 5 infra-labiaes; mental grande, sub-triangular, contigua posteriormente com 3 escamas augmentadas e seguidas, para trás e para os lados, por granulos gradualmente menores. Pescoço e dorso cobertos de granulos erectos; pequenos tuberculos espiculiformes, formando ás vezes tufos, disseminados sobre os lados do pescoço, a face dorsal do membro anterior, o dorso e os flancos. Ventre coberto de escamas cycloides, inteiramente lisas; membros com granulos erectos e asperos, na face dorsal e escamas lisas cycloides na ventral do membro posterior. Digitos delgados, phalange basal cylindrica, com 1 fila de escamas ligeiramente augmentadas, phalange distal comprimida. Cauda conico-cylindrica, coberta em cima de escamas granulares até espinhosas, augmentando e passando gradualmente a chatas, grandes e cycloides em baixo. Poros ausentes.

*Coloração* — Pardo-chocolate em cima com uma lista clara de cada lado, desde a ponta do focinho, passando pelo olho, até a base da cauda; vermiculações claras sobre a cabeça e manchas brancas sobre o dorso; tuberculos dorso-lateraes todos brancos; membros e cauda manchados de castanho e claro; ventre e garganta claros apenas punctuados de pardo.

*Holotypo* — No. 661, na collecção do Museu Paulista, colhido em 1902, na região do Rio Juruá, Amazonas, Brasil, pelo sr. Ernesto Garbe.

*Dimensões* — Comprimento total 80 mm.; distancia rostro-anal 42 mm.; cabeça 12 × 8 mm.; membro anterior 16 mm.; membro posterior 18 mm.; cauda 38 mm..

*Nota:* *G. spinulosus* é affim da especie indo-ceylonica *G. kandianus* Kelaert, de que differe principalmente pelo numero de labiaes (5, em logar de 7 a 8) e pela presença de escamas lisas sob o pescoço.

## Gen. **Gymnodactylus** Spix

### **Gymnodactylus conspicuus**, sp. n.

(Figs. 9 — 10)

*Definição* — Cabeça ligeiramente deprimida; focinho tão largo quanto o diametro inter-orbitario e quanto a distancia oculo-auricular; fronte um tanto convexa; narina entre a rostral, as 2 inter-nasaes e 1 ou 2 escamas post-nasaes; ouvido oblongo até sub-triangular, cerca de 1/4 do diametro do olho. Focinho coberto de grandes escamas redondas e granulares; rostral quasi 2 vezes tão larga quanto alta, com uma incisura mediana superior; escamas inter-nasaes um tanto augmentadas, formando um par contiguo; 5 supra-labiaes; 5 infra-labiaes; mental grande, arredondada posteriormente e contigua de cada lado com uma pequena placa em contacto com a 1.ª infra-labial; escamas gulares cycloides e maiores para o lado das infra-labiaes. Dorso coberto com minusculos granulos regularmente entremea-

dos de grandes tuberculos sub-triangulares e carinados, formando 12 fileiras longitudinaes; ventre coberto de escamas lisas arredondadas e imbricadas, dispostas em 18-20 fileiras longitudinaes. Cauda sub-cylindrica, com escamas carinadas em cima e lisas em baixo, serie mediana inferior augmentada transversalmente. Poros pre-anaes ausentes; 3 escamas tuberculiformes presentes, em 1 fila obliqua, de cada lado da região post-anal, como em *Phyllopezus goyazensis* Peters, 1877.

*Coloração* — Cabeça pardo-acinzentada, temporas e labios manchados de negro; dorso cinzento, manchado de castanho-anegrado, tuberculos claros; membros manchados de escuro em cima; garganta e ventre claros, escamas pontilhadas de castanho anegrado; cauda castanha acinzentada, com barras ou sub-aneis escuros, margeados posteriormente de claro.

*Holotypo* — No. 408, na collecção do Museu Paulista, colhido em Villa Nova, Bahia, Brasil, pelo sr. Ernesto Garbe.

*Dimensões* — Comprimento total 87 mm.; distancia rostro-anal 42 mm.; cabeça 10 X 9 mm.; membro anterior 13 mm.; membro posterior 16 mm.; cauda 45 mm..

*Paratypos* — Nos. 457, 457.A, 457.B, 658, 658.A e 665.A, na collecção do Museu Paulista, todos colhidos na mesma localidade que o holotypo, pelo sr. E. Garbe.

*Variações*: 4 ou 6 supra-labiaes; 6 infra-labiaes; 18-20 fileiras longitudinaes de escamas ventraes. O exemplar 658 tem as mesmas dimensões que o typo; todos os mais são menores.

*Notas*: Pequeno Geckonideo, conspicuamente tuberculado, diverso de *G. geckoides* Spix, 1825, pela coloração e sobretudo pela presença de 12, em logar de 14, fileiras longitudinaes de tuberculos carinados no dorso e 18-20, em logar de 16, fileiras longitudinaes de escamas arredondadas no ventre; distincto igualmente de *G. amarali* Barbour (Proc. Biol. Soc. Washington XXXVIII: 101, 1925) pela coloração e pela presença de 12 regulares, em logar de 15 irregulares, fileiras de tuberculos dorsaes e de 18-20, em logar de 21, fileiras de escamas ventraes.

## Fam. IGUANIDAE

### Gen. Anolis DAUDIN

### Anolis nasofrontalis, sp. n.

(Figs. 11 — 12)

*Definição* — Habitus delgado, corpo comprimido. Appendice gular accentuado. Cabeça quasi 2 vezes tão longa quanto larga (15:8); narina antero-superior, na extremidade do focinho; fronte concava, sem arestas; rostral baixa, 3 ve-

zes tão larga quanto alta; escamas supra-cephalicas moderadas e lisas; circulos supra-orbitarios formados de 8 escamas desenvolvidas, lisas, contiguas entre si e com a occipital; occipital pequena, pouco maior do que o ouvido; supra-orbitarias desenvolvidas e separadas das supra-ciliares por 2-5 series de granulos; supra-ciliares posteriores pequenas, granulares, 2 anteriores maiores; 2-3 series de frenaes superpostas; 7/6 supra-labiaes; 7 infra-labiaes; mental com 1 incisura posterior, em continuação do sulco gular mediano, seguida, de cada lado, por 1 serie de grandes escamas gradualmente decrescentes para trás; escamas gulares granulares e lisas. Escamas dorsaes juxta-postas, granulares, lisas, a fila para-vertebral ligeiramente maior e separada da opposta por um sulco ou sutura vertebral; ventraes algo desenvolvidas, lisas e sub-imbricadas. Membros cobertos de escamas granulares até sub-imbricadas, algo maiores nas faces anteriores; o membro posterior, trazido á frente, attingindo a axilla; expansões digitaes bem desenvolvidas, 20 laminulas sob as phalanges II e III do 4.° digito posterior. Cauda conico-cylindrica, 2 vezes tão longa quanto o corpo, coberta de pequenas escamas juxta-postas, tornando-se carinadas posteriormente.

*Coloração* — Verde acinzentado em cima, com duplas marcas ou vermiculações descendentes obliquamente da nuca e da linha vertebral para os membros e flancos; cauda e membros com pequenas faixas transversaes margeadas de escuro. Faixa dupla inter-orbital preta e pouco nitida; superficie ventral mais clara, marmorada de pardo; sacco gular com uma grande mancha anterior roseo-parda ou alaranjada.

*Holotypo* — No. 440 ( ), na collecção do Museu Paulista, colhido no Estado do Espirito Santo, Brasil, pelo sr. Ernesto Garbe, em 1906.

*Allotypo* — No. 440.A ( ), colhido na mesma localidade, pelo sr. Garbe, na mesma occasião.

*Dimensões em mm.*

| | No. 440 | No. 440.A |
|---|---|---|
| Comprimento total | 147 | 125 |
| " rostro-anal | 45 | 38 |
| " da cabeça | 15 | 12 |
| Largura da cabeça | 8 | 7 |
| Comprimento do membro anterior | 17 | 15 |
| " " " posterior | 25 | 27 |
| " da tibia | 9 | 9 |
| " da cauda | 87 | 75 |

*Nota*: Esta especie parece affim de *A. tigrinus* Peters, 1863, e *A. transversalis* Duméril, 1851, distinguindo-se da primeira pelo comprimento do focinho, numero de laminulas sub-phalangicas do 4.° digito posterior e coloração e differenciando-se da segunda pela conformação da cabeça, posição das narinas e coloração.

**Anolis pseudotigrinus**, sp. n.
(Figs. 13-14)

*Definição* — Habitus delgado. Corpo algo comprimido. Cabeça 2 vezes tão longa quanto larga e 1 ½ vez tão longa quanto a tibia; fronte ligeiramente concava; rostral diminuta e muito baixa; narina lateral, situada em baixo de uma saliencia na extremidade do focinho como em *A. transversalis* Duméril, 1851; escamas supra-cephalicas antes grandes, lisas, em cerca de 3-5 filas entre as canthaes; semi-circulos supra-orbitarios em contacto entre si e com a occipital e formados de 5 escamas lisas e largas; occipital desenvolvida, cerca de 3 vezes tão grande quanto o ouvido; cantho rostral arredondado e longo, formado de 6-7 escamas seguidas, para trás, por 1 supra-ciliar augmentada e carinada; 9 supra-labiaes, 8 até abaixo do meio da orbita; 9 infra-labiaes; mental larga, com 1 incisura mediana em toda extensão e seguida de uma fileira de placas contiguas ás infra-labiaes e transformando-se em escamas cada vez menores na região gular; gulares granulares e lisas; appendice gular pouco nitido. Corpo, membros e cauda cobertos, na face dorsal e ventral, por escamas granulares, lisas e juxta-postas, dispostas em filas mais regulares ao longo da linha vertebral e sob a cauda. Membro posterior, trazido á frente, mal attingindo a axilla; expansões digitaes bem desenvolvidas. 18 laminulas sob as phalanges II e III do 4.° digito posterior; escamas caudaes tornando-se gradualmente carinadas para trás.

*Coloração* — Pardacento-ferrugineo em cima com manchas escuras obliquas transversaes sobre o dorso e a cauda; face ventral mais clara.

*Holotypo* — No. 721.B (♀), na collecção do Museu Paulista, colhido na região do rio Doce, Espirito Santo, Brasil, pelo sr. Ernesto Garbe, em 1906.

*Dimensões* —

| | | | |
|---|---|---|---|
| Comprimento total | 136 mm. | Comprimento rostro-anal | 45 mm. |
| " da cabeça | 15 mm. | " membro anterior | 16 mm. |
| Largura " " | 7,5 mm. | " " posterior | 24 mm. |
| Comprimento da cauda | 76 mm. | " tibia | 10 mm. |

*Nota*: Por sua conformação geral, a presente especie é muito affim de *A. tigrinus* Peters, 1863, de que todavia se distingue pela presença de 4, em vez de 2, filas superpostas de frenaes, pelo maior tamanho da occipital e pela ausencia de fossetas marginaes nas escamas supra-cephalicas.

**Anolis transfasciatus**, sp. n.
(Figs. 15—16)

*Definição* — Habitus delgado. Corpo comprimido. Narina lateral perto da ponta do focinho. Cabeça cerca de 2 vezes tão longa quanto larga (22:12), mais

longa do que a tibia (22:16); rostral baixa, de borda superior serrilhada; escamas supra-cephalicas asperas, ás vezes irregularmente unicarinadas, pequenas sobre o focinho e occipicio e augmentadas na fronte e entre as orbitas; supra-oculares largas; circulo supra-ocular formado de escamas augmentadas (6-8), separadas entre si por 1 a 2 series de pequenas escamas; occipital pequena, metade do tamanho do ouvido arredondado; 6 canthaes e 1 supra-ciliar augmentadas e carinadas, tornando agudo o rebordo do focinho; 6 filas de frenaes superpostas, seguidas para trás de 1 fila de 5-6 sub-oculares augmentadas; 10 supra-labiaes, das quaes 7-8 até abaixo do meio da orbita; 9 infra-labiaes; mental larga e curta, com uma incisura mediana posterior profunda, seguida para trás por series de placas carinadas, tornando-se esquamiformes e granulares para o meio; escamas gulares granulares e lisas. Appendice gular apenas perceptivel. Crista dorso-nucal ausente. Escamas dorsaes juxta-postas, granulares, asperas, augmentando de tamanho para o lado do ventre e ao lado da linha vertebral, 2 fileiras para-vertebraes longitudinaes ligeiramente carinadas; ventraes pequenas e sub-imbricadas nos lados até maiores e imbricadas ao longo da linha mediana. Membros cobertos de pequenas escamas granulares, tornando-se maiores e carinadas anteriormente, sobre o antebraço até os dedos e sobre a coxa e perna até as bases digitaes; digitos dilatados, com laminulas simples e lisas, juntas distaes comprimidas e um tanto erguidas sobre as basaes; 27 laminulas sob a II e III phalanges do 4.° digito posterior. Membro posterior, trazido á frente, attingindo o ouvido. Cauda conico-cylindrica, algo comprimida, cerca de 2 ½ vezes tão longa quanto o corpo, coberta na base com escamas pequenas e lisas, tornando-se maiores e carinadas para a face inferior e para a ponta.

*Coloração* — Cinzento-azulado (azul esverdeado em vida?), com innumeras faixas transversaes escuras, margeadas de negro sobre a nuca, o dorso, os membros e a cauda. Região inter-orbitaria com 2 listas transversaes negras, separadas por 1 azulada; focinho e face ventral salpicados ou punctuados de negro; região post-orbitaria com uma faixa negra longitudinal encontrando-se na nuca com a do lado opposto.

*Holotypo* — N. 432 ( ♀ ), na collecção do Museu Paulista, colhido no Estado do Espirito Santo, Brasil, pelo sr. Ernesto Garbe, em 1906.

*Dimensões* —

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Comprimento total | 260 mm. | Comprimento do corpo | | 75 mm. |
| " da cabeça | 22 mm. | " | membro anterior | 30 mm. |
| Largura " " | 12 mm. | " | " posterior | 49 mm. |
| Comprimento da cauda | 185 mm. | " | tibia | 16 mm. |

*Nota*: *A. transfasciatus* parece affim de *A. fusco-auratus* d'Orbigny, 1837, da qual facilmente se differencia pela proporção das phalanges do 4.° digito posterior, pela pholidose das regiões canthal e ventral e pela coloração.

**Anolis garbei,** sp. n.
(Figs. 17 — 18)

*Definição* — Habitus delgado. Corpo comprimido. Cabeça menos de 2 vezes tão longa quanto larga e um pouco mais curta do que a tibia; fronte concava; rostral diminuta e baixa; narina lateral, situada no centro e abaixo de uma saliencia na extremidade do focinho; escamas supra-cephalicas pequenas, asperas até irregularmente carinadas, em cerca de 12 filas entre as canthaes; semi-circulos supra-orbitarios formados de 6 escamas augmentadas, asperas, separadas entre si por 2 series de escamas menores; supra-orbitarias bastante augmentadas para dentro e reduzidas para fóra, todas asperas ou uni-carinadas; occipital desenvolvida e do tamanho do ouvido, separadas dos circulos supra-orbitarios por duas filas de escamas. 5 canthaes asperas, augmentando para trás, 2 supra-ciliares carinadas, a anterior maior; 5 series superpostas de frenaes asperas; 2-3 series de escamas sub-oculares. 10 supra-labiaes, 8 até abaixo do meio da orbita; 11/12 infra-labiaes; mental curta e bem larga com uma incisura posterior, escamas mentaes maiores e carinadas no lado e granulosas e asperas no centro; gulares asperas e eriçadas, especialmente sob o appendice gular distincto. Dorso, flancos e ventre com escamas granulares, asperas, juxta-postas, mais nitidas e desenvolvidas ao longo das linhas medianas dorsal e ventral; 2 escamas post-anaes desenvolvidas. Membro posterior, trazido á frente, attingindo a ponta do focinho. Expansões digitaes pouco desenvolvidas, 16 laminulas sob as phalanges II e III do 4.° digito posterior; membros cobertos de escamas carinadas, maiores na face anterior do braço e da coxa; cauda conico-cylindrica, coberta de escamas granulares na base, tornando-se sub-imbricadas e carinadas para a ponta.

*Coloração* — Cinzento pardacento em cima e regularmente manchado ou estriado sobre o dorso e membros; faixa inter-orbitaria escura apparente; 1 faixa escura desde a região post-orbitaria pelos flancos até a base da cauda. Face ventral amarellada, manchada de castanho sobre os lados.

*Holotypo* — N.° 706 (♂), na collecção do Museu Paulista, colhido em Monte Christo, região do rio Tapajoz, Pará, Brasil, em 1905, pelo sr. Ernesto Garbe, a cuja memoria a especie é dedicada.

*Dimensões* —

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Comprimento total | 55 mm. +n | Comprimento rostro-anal | | 38 mm. |
| " da cabeça | 10 mm. | " | membro anterior | 16 mm. |
| Largura " " | 6 mm. | " | " posterior | 35 mm. |
| Comprimento da cauda | 16 mm. +n | " | tibia | 11 mm. |

*Nota:* A presente especie parece muito proxima de *A. leptoscelis* Boulenger, 1885 (da região do Alto Amazonas), de que se pode distinguir pela maior conti-

guidade da occipital com as supra-orbitarias, pelo menor numero de frenaes e pela pholidose do dorso e do ventre.

## Gen. **Norops** Wagler

### **Norops marmorata, sp. n.**

(Figs. 19—20)

*Definição* — Habitus delgado. Corpo sub-cylindrico, ligeiramente comprimido, desprovido de dobra ou crista dorso-nucal. Cabeça antes pequena, quasi 2 vezes tão longa quanto larga (13:7,5), mais longa do que a tibia (13:10); fronte concava, arestas frontaes curtas; escamas supra-cephalicas pequenas, uni- até tri-carinadas, estendendo-se até a ponta do focinho e o rebordo oral anterior (rostral ausente); narina lateral, proxima á ponta do focinho; semi-circulos supra-orbitarios formados por escamas augmentadas e uni-carinadas, contiguos, ou separados entre si por uma fila de minusculas escamas; escamas supra-orbitarias tambem augmentadas em 2-3 fileiras e uni-carinadas, separadas por 2-3 fileiras de granulos asperos, das supra-ciliares, em numero de 5 em 2 filas; occipital um pouco maior do que o ouvido, separada das supra-orbitarias por uma fileira de escamas; ouvido antes pequeno, obliquamente elliptico; cantho rostral accentuado, formado por 3 escamas carinadas; 5 fileiras frenaes, carinadas; 6 supra-labiaes, carinadas, 4 até abaixo do centro da orbita; 6 infra-labiaes, carinadas; escamas gulares granulares e asperas, augmentando para o lado e tornando-se escutiformes e carinadas junto ás infra-labiaes; appendice gular distincto (♀). Escamas em 100-102 series em redor do corpo, asperas ou carinadas; medio-dorsaes sub-imbricadas e carinadas e diminuindo para os lados; lateraes granulares e asperas, augmentando para o ventre; ventraes arredondadas e imbricadas, carinadas até sub-mucronadas. Membros delgados, o posterior, trazido á frente, attingindo o ouvido; expansões digitaes fracas, a junta distal não elevada sobre a penultima; 12 laminulas sob as phalanges II e III do 4.° digito posterior. Poros ausentes. Cauda delgada, conico-cylindrica, 1 ½ vez tão longa quanto o corpo, coberta de escamas carinadas e imbricadas, ligeiramente augmentadas inferiormente.

*Coloração* — Pardo-amarellado em cima, algo marmorado ou manchado de cinzento negro; fronte e occipicio e garganta com manchas ou maculas negras, amarellado claro na face ventral.

*Dimensões* —

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Comprimento total | 124 mm. | Comprimento membro anterior | | 22 mm. |
| " da cabeça | 13 mm. | " " | posterior | 36 mm. |
| Largura " " | 7,5 mm. | " | tibia | 10 mm. |
| Comprimento rostro-anal | 50 mm. | " | cauda | 74 mm. |

*Holotypo* — N.º 737 ( ♀ ), na collecção do Museu Paulista, colhido em Jaguara, rio Grande, Minas Geraes, pelo sr. Mathias Wackett, em 1902.

*Nota*: *N. marmorata* é bastante affim de *N. aurata* Daudin, 1802 e de *N. sladeniae* Boulenger, 1903 (typo de Chapada, Matto Grosso, Brasil), differindo de *aurata* pela pholidose da cabeça e do corpo e pela coloração, e de *sladeniae* pelo menor numero de labiaes, maior numero de escamas em redor do corpo e pela coloração.

### Gen. **Garbesaura,** g. n.

*Diagnose* — Genero de Iguanideo, com dentes pre-maxillares conicos; dentes maxillares lateraes tricuspidos; dentes pterygoideos presentes. Digitos pentadactylos; laminulas infra-digitaes distinctamente carinadas. Cabeça alta, desprovida de saliencia posterior; placa occipital pequena. Dobra transversa e appendice gulares ausentes. Poros anaes e femoraes ausentes. Costellas abdominaes ausentes. Corpo algo comprimido. Escamas dorsaes pequenas, granulares, asperas ou ligeiramente carinadas, juxta-postas; crista dorsal ausente; escamas caudaes augmentando para a extremidade e para a face ventral, ligeiramente carinadas, sub-imbricadas; escamas ventraes algo maiores, sub-quadradas, distinctamente carinadas, sub-imbricadas. Cauda sub-conico-cylindrica.

Genero affim de *Liolaemus* Wiegmann, 1835 e de *Proctotretus* D. & B., 1837, distinguindo-se do primeiro, por possuir corpo comprimido e escamas dorsaes juxta-postas; e do segundo, por esses mesmos caracteres e por lhe não formarem as escamas da serie vertebral uma saliencia cristiforme.

### **Garbesaura garbei,** sp. n.

(Fig. 21)

*Definição* — Orbitas elevadas, vertice excavado; escamas supra-cephalicas pequenas, granulares, asperas ou carinadas. Tympano distincto, de contornos quasi lisos; canthus e rebordo supra-orbitario salientes, formados por escamas carinadas; narinas lateraes, proximas da ponta do focinho; 11 supra-labiaes pequenas; 10 infra-labiaes igualmente pequenas. Dobra pre-humeral presente, sem se estender até a garganta. Membro posterior trazido á frente, attingindo perto da narina. Cauda quasi duas vezes tão longa quanto o corpo, afinando gradualmente, sub-conica, ligeiramente comprimida na base.

*Coloração* — Corpo acinzentado em cima, com manchas obliquas lateraes de côr parda-chocolate e centro claro; cabeça amarello-pardacenta, com varias estrias anegradas, das quaes 3 longitudinaes sob o occipicio e 1 transversal entre as orbitas passando sobre os olhos e bifurcando-se para baixo e para trás; face ventral amarellada, manchada de escuro na região gular; cauda e membros com manchas castanhas, sobretudo nitidas na face dorsal.

*Dimensões* —

| | | | |
|---|---|---|---|
| Comprimento total | 140 mm. | Comprimento membro anterior | 28 mm. |
| " da cabeça | 18 mm. | " " posterior | 48 mm. |
| Largura " " | 12 mm. | " tibia | 15 mm. |
| Comprimento rostro-anal | 50 mm. | " cauda | 90 mm. |

*Holotypo* — N.º 705 ( ♀ ), na collecção do Museu Paulista, colhido em Monte Christo, Tapajoz, Pará, Brasil, pelo eximio naturalista-viajante daquelle Museu, sr. Ernesto Garbe, á cuja memoria o presente genero e especie são dedicados.

### Gen. **Tapinurus**, g. n.

*Diagnose* — Genero de Iguanideo, de corpo bastante deprimido, sem signal siquer de crista dorsal. Dentes lateraes tricuspidos ou bicuspidos, os anteriores ligeiramente augmentados. Fontanella esternal grande. Costellas abdominaes ausentes. Escamas dorsaes pequenas, uniformes, imbricadas e lisas; lateraes um pouco menores e espinulosas; ventraes pequenas, um pouco maiores do que as dorsaes, imbricadas e lisas. Tympano distincto. Escamas supra-cephalicas desenvolvidas e chatas; occipital muito grande. Dobras cervico-humeral e dorso-lateral bem nitidas; saco gular ausente. Digitos comprimidos, com laminulas carinadas inferiormente. Poros femoraes ou pre-anaes ausentes. Cauda longa, bastante deprimida na base, com escamas pequenas, lisas na face superior e inferior da base e tornando-se gradualmente granulosas até espino-serrulares para os lados e para a extremidade da cauda.

Genero proximo a *Tropidurus* Wied, 1825 e *Strobilurus* Wiegmann, 1834, dos quaes se distingue principalmente pelo typo da pholidose dorsal e caudal.

### **Tapinurus scutipunctatus**, sp. n.
(Figs. 22-25)

*Definição* — Focinho curto, narina pequena, no centro de uma nasal dorso-lateral; escamas supra-cephalicas com pequenas depressões marginaes; uma serie de cerca de 5 a 7 supra-oculares transversalmente augmentadas, metade tão largas quanto a região supra-ocular e separadas das supra-orbitarias por 3 ou 4 filas de escamas e das do lado oposto por 2 series de escamas, além de 2 outras series formando os circulos supra-oculares; occipital quasi tão longa quanto larga e tão grande quanto a região supra-ocular; temporaes granulares e asperas; supra-orbitarias estreitas, alongadas e cortantes; 1 grande infra-orbitaria com uma borda superior cortante; 5 supra-labiaes e 7 infra-labiaes; ouvido tão grande quanto o olho, com o rebordo anterior coberto por uma serie de escamas eriçadas. Dobra cervico-humeral anterior estendida mais ou menos através da garganta, a posterior prolongada para cima e para trás, em curva em volta da espadua e ao longo de cada

flanco, até a base do membro posterior. Membro posterior, trazido para a frente, attingindo entre o olho e o ouvido. Membro anterior coberto de escamas carinadas em cima; posterior com escamas granulosas até espinulosas em cima e principalmente nas vizinhanças dos digitos.

*Coloração* — Pardo-acinzentado no dorso, manchado de amarello e com uma faixa cinzento-amarellada desde o focinho, alargando-se e bifurcando-se perto da base da cauda; ventre branco-amarellado com marmorações cinzentas sob a cabeça e o peito.

*Holotypo* — N.º 666 ( ♀ ), na collecção do Museu Paulista, colhido em Villa Nova, Bahia, Brasil, em 1908, pelo sr. Ernesto Garbe.

*Paratypos* — Todos obtidos na mesma localidade e epoca pelo mesmo collecionador: N.º 666.A ( ♂ ), N.º 666.B ( ♂ ), N.º 666.C ( ♀ ), N.º 666.D ( ♀ ), N.º 666.E ( ♀ ), N.º 413 ( ♀ ), N.º 413.A ( ♀ ). Variações: 5-6 supra-labiaes; 7-8 infra-labiaes.

*Dimensões em mm.:*

| | Compr. total | Compr. corpo | Compr. cauda | Compr. cabeça | Larg. cabeça | Compr. m. anterior | Compr. m. posterior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| N.º 666 . . . . | 235 | 80 | 155 | 20 | 15 | 37 | 55 |
| N.º 666.A. . . | 130 | 45 | 85 | 12 | 9 | 22 | 31 |
| N.º 666.B. . . | 152 | 53 | 99 | 13 | 9,5 | 24 | 38 |
| N.º 666.C. . . | 110 + n | 53 | mutilada | 13 | 9.5 | 24 | 37 |
| N.º 666.D. . . | 190 | 70 | 120 | 17 | 12,5 | 34 | 51 |
| N.º 666.E. . . | 120 | 39 | 81 | 11 | 7 | 20 | 29 |
| N.º 413 . . . . | 152 | 55 | 97 | 14 | 10 | 24 | 39 |
| N.º 413.A. . . | 178 | 60 | 118 | 15 | 11 | 27 | 40 |

## Fam. TEIIDAE

### Gen. **Arthroseps** BOULENGER

Baseado num exemplar procedente de Blumenau, Santa Catharina, Boulenger, em 1898 (Proc. Zool. Soc.:920-921, pl. IV:3), descreveu um novo genero de Teiideo, que denomina *Arthroseps* com a especie *werneri*. Esse genero ficara monotypico até agora. Na collecção de saurios do Museu Paulista, todavia, encontrei um pequena lagarto que, pelos caracteres geraes, deve pertencer ao genero *Arthroseps*, distinguindo-se da especie *werneri* por certas importantes particularidades da pholidose. Por isso, aqui vai descripto:

**Arthroseps fluminensis**, sp. n.

(Figs. 26—30)

*Definição* — Pequeno Teiideo, com membros pentadactylos, ouvido exposto e tympano superficial, papillas linguaes esquamiformes e imbricadas, palpebra inferior com um disco transparente formado por 2 escamas, cauda conico-cylindrica. Fronto-nasal bem desenvolvida, separando as nasaes. Pre-frontaes duplas; frontal alongada; fronto-parietaes duplas, pouco maiores do que as prefrontaes; inter-parietal e as 2 parietaes grandes e sub-iguaes; occipitaes pequenas, dispostas em 1 par de cada lado e uma impar mediana; 4 supra-oculares, as 3 posteriores dispostas transversalmente, a anterior, longitudinalmente; nasal inteira, com a narina ao centro; 1 frenal e 1 freno-orbitaria; 6/7 supra-labiaes; 5 infra-labiaes; mentaes — 1 impar mediana, anterior, seguida de 3 pares, os 2 anteriores contiguos, o posterior separado por 1 par de placas gulares; escamas gulares em 5 filas longitudinaes; 5 collares em 1 fila, ligeiramente alongadas. Escamas dorsaes hexagonaes, fortemente carinadas, dispostas apenas em series transversaes, em 31 filas do occipicio ao sacro; lateraes semelhantes ás dorsaes, mas quasi lisas; ventraes hexagonaes, lisas e dispostas em 8 filas transversalmente e 20 longitudinalmente; 28 filas de escamas em redor do meio do corpo; pre-anaes 3, muito alongadas; poros femoraes ou pre-anaes ausentes.

*Coloração* — Pardacento superiormente, com o centro de todas as escamas mais claro; claro amarellado, sem manchas, inferiormente.

*Dimensões* —

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Comprimento total | 83 mm. | Comprimento membro anterior | | 6 mm. |
| " da cabeça | 7 mm. | " | " posterior | 8 mm. |
| Largura " " | 3,5 mm. | " | tibia | 3 mm. |
| Comprimento rostro-anal | 40 mm. | " | cauda | 43 mm. |

*Holotypo* — N.º 800, na collecção do Museu Paulista, colhido na Serra de Macahé, estado do Rio de Janeiro, Brasil, em fevereiro de 1909, pelo sr. Ernesto Garbe.

Gen. **Elaphrosaura**, g. n.

*Diagnose* — Genero de Teiideo, com membros pentadactylos; tympano visivel (ouvido exposto); placas nasaes bem separadas pela fronto-nasal; pre-frontaes duplas. Papillas linguaes esquamiformes e imbricadas. Cauda conico-cylindrica. Escamas dorsaes grandes, quadrangulares, carinadas, dispostas apenas em series transversaes; escamas lateraes pequenas e irregulares; ventraes quadrangulares, lisas, dispostas em series longitudinaes e transversaes largas, as 2 medianas estreitas. Dobra collar ausente. Poros femoraes ausentes (?).

Genero affim de *Euspondylus* Tschudi, 1845 e *Placosoma* Tschudi, 1847, dos quaes se distingue com facilidade, respectivamente, pela ausencia de dobra collar e pela disposição das placas ventraes.

### **Elaphrosaura spitzi**, sp. n.

(Figs. 31—35)

*Definição* — Habitus delgado; corpo deprimido; focinho alongado e saliente. Rostral arredondada e larga; fronto-nasal mais longa do que larga; pre-frontaes bem em contacto sobre a linha mediana; frontal alongada, estreita; fronto-parietaes duplas, pequenas; inter-parietal grande, algo menor do que as parietaes; occipitaes duplas, grandes; supra-oculares 5, as 3 medianas bem desenvolvidas; nasal alongada, com a narina na parte anterior; frenal alta; temporaes maiores em cima do que em baixo; 4/5 supra-labiaes; 5 infra-labiaes; mentaes grandes, 1 anterior e 3 pares (+ 1 anomala), o ultimo par separado por escamas; gulares, primeiro irregulares e, depois, em 9 filas dispostas longitudinalmente; escamas da fila collar algo maiores. Dorsaes em 36 filas do occipicio á base da cauda; ventraes em 8 filas transversalmente (as 2 medianas mais estreitas), e em 24 filas longitudinalmente; 30 filas de escamas em volta do meio do corpo. Placas pre-anaes em 2 filas, 3 na anterior e 5 na posterior, a mediana da anterior e as 2 para-medianas da posterior maiores. Cauda ligeiramente deprimida, coberta de escamas semelhantes ás do corpo.

*Coloração* — Pardacenta com uma faixa escura em cada flanco e uma dorsal mediana, descontinua, sobre a cauda; cabeça manchada de escuro sobre as orbitas, o occipicio e a nuca e com uma larga faixa post-orbitaria, margeada de branco, em baixo e fundida, para trás, com a faixa de cada flanco; face ventral amarellada, salpicada de castanho.

*Dimensões* —

| | | | |
|---|---|---|---|
| Comprimento total | 55 mm. | Comprimento membro anterior | 8 mm. |
| " da cabeça | 11 mm. | " " posterior | 11 mm. |
| Largura " " | 4,5 mm. | " tibia | 3 mm. |
| Comprimento rostro-anal | 34 mm. | " cauda (mutilada) | |

*Holotypo* — N.º 762 ( ♂ ), na collecção do Museu Paulista, colhido em Alto da Serra (serra de Cubatão), S. Paulo, Brasil, em março de 1925, pelo preparador daquelle Museu, sr. Roberto Spitz, a quem a especie é dedicada.

### Gen. **Anotosaura**, g. n.

*Diagnose* — Genero de Teiideo desprovido de ouvido apparente; narina bem no centro de uma nasal inteira; palpebra inferior com um disco inteiro e trans-

parente. Fronto-nasal e prefrontaes presentes; fronto-parietaes ausentes. Corpo e cauda alongados, vermiformes. Membros curtos, pentadactylos; digitos todos ungulados. Escamas dorsaes sub-hexagonaes, lisas, dispostas apenas em series transversaes; ventraes quadrangulares, dispostas em series transversaes e longitudinaes. Dobra collar presente. Poros femoraes e pre-anaes presentes.

Genero affim de *Scoleeosaurus* Boulenger, 1885 e *Heterodactylus* Spix, 1825, dos quaes se distingue facilmente pelos caracteres digitaes e nasaes.

**Anotosaura collaris,** sp. n.

(Figs. 36—40)

*Definição* — Cabeça ligeiramente deprimida; fronto-nasal heptagonal, mais larga do que longa; 1 par de pre-frontaes pequenas, contiguas entre si; frontal heptagonal, mais longa do que larga, contigua ás supra-oculares em numero de 3, a mais anterior contigua á pre-frontal e frenal; inter-parietal estreita, alongada, de bordos lateraes curvos e muito menor do que as 2 parietaes; occipitaes ausentes; nasal mais longa do que alta, com a narina no centro; frenal mais alta do que longa; 2 pequenas supra-orbitarias; 2 infra-orbitarias estreitas, contiguas ás 3.ª, 4.ª e 5.ª supra-labiaes; temporaes desenvolvidas; 6 supra-labiaes; 5 infra-labiaes; mental anterior impar, heptagonal, seguida de 3 pares, todos contiguos sobre a linha mediana, o 3.° chegando ao labio, de cada lado, entre a 4.ª e a 5.ª infra-labiaes e seguido, para o meio, por 1 par de gulares desenvolvidas; placas gulares um tanto augmentadas mesialmente, em 4 filas longitudinaes; fila collar mais longa; 23 series de escamas em redor do meio do corpo; dorsaes e lateraes sub-hexagonaes e em 25 filas transversalmente; ventraes sub-quadradas em 8 filas longitudinalmente e 18 transversalmente; 2 pares de placas peitoraes distinctas; 9 placas pre-anaes, em 2 filas: 4 na anterior e 5 na posterior, a mediana menor de todas. 2 poros femoraes de cada lado e 4 pre-anaes. Cauda conico-cylindrica, terminada em ponta, coberta por escamas com os caracteres das correspondentes dorsaes e ventraes.

*Coloração* — Pardo-acinzentado em cima levemente estriado de castanho, com uma faixa lateral mais escura, tarjada de claro em cima.

*Dimensões* —

| | | | |
|---|---|---|---|
| Comprimento total | 75 mm. | Comprimento rostro-anal | 37 mm. |
| " da cabeça | 6 mm. | " membro anterior | 5 mm. |
| Largura " " | 4,5 mm. | " " posterior | 9 mm. |
| | | " cauda | 38 mm. |

*Holotypo* — N.° 788, na collecção do Museu Paulista, colhido em Villa Nova, Bahia, Brasil, em 1908, pelo sr. Ernesto Garbe.

Gen. **Colobodactylus,** g. n.

*Diagnose* — Genero de Teiideo, perfeitamente intermediario a *Heterodactylus* Spix, 1825 e *Colobosaura* Boulenger, 1887: narina situada entre a nasal e a 1.ª supra-labial, ouvido exposto, digitos bem desenvolvidos, excepto o dedo interno que é tubercular (mão tetradactyla), palpebras desenvolvidas, a inferior com 1 disco inteiro trasparente; escamas dorsaes hexagonaes e lanceoladas, carinadas e imbricadas em series transversaes; ventraes maiores, arredondadas ou sub-quadradas, lisas e dispostas em series longitudinaes e transversaes. Dobra collar ausente. Cauda conico-cylindrica. Poros femoraes presentes em ambos os sexos.

**Colobodactylus taunayi,** sp. n.
(Figs. 41 — 45)

*Definição* — Fronto-nasal bem grande, hexagonal; prefrontaes ausentes; frontal bem desenvolvida, sub-pentagonal; fronto-parietaes pares, sub-hexagonaes; parietaes irregularmente hexagonaes, tão grandes quanto a fronto-nasal e 2 vezes tão largas quanto a inter-parietal sub-hexagonal; 2 pares de occipitaes dispostas transversalmente e separadas por um escudo azygo; 3 supra-oculares, a mediana maior; nasal 2 ½ vezes tão longa, quando alta, com a narina na parte anterior; frenal pequena, sub-triangular; 2 temporaes desenvolvidas; 2 supra-orbitarias, 5 supra-labiaes e 5 infra-labiaes; mental anterior impar, heptagonal, seguida de 2 pares contiguos de escudos mentaes e de 1 par mediano de grandes escamas gulares; dobra gular ausente, escamas gulares (inclusive serie collar) em 6 filas de escamas dispostas transversalmente mais ou menos em 2 filas; escudos peitoraes alongados, em 5 filas. Escamas dorsaes e caudaes estreitas, hexagonaes lanceoladas, carinadas e imbricadas, formando series transversaes; dorsaes em 31 filas transversalmente; ventraes arredondadas até sub-quadradas, imbricadas, lisas, em 21 filas transversaes e 4 filas longitudinaes. Mão tetradactyla, dedo interno reduzido a um simples tuberculo; pé pentadactylo, digitos todos ungueados. 4 preanaes, 1 anterior mediana e 3 posteriores; 8 poros femoraes ( ♂ ).

*Coloração* — Pardacento claro em cima e escuro nos lados: 11 fileiras mediodorsaes amarelladas e 8 lateraes ou para-ventraes, de cada lado, de cor castanha, salpicada de preto, estendendo-se pela região temporal e ocular até o lado do focinho. Face ventral amarellada e clara, salpicada de preto.

*Holotypo* — N.º 787 ( ♂ ), na collecção no Museu Paulista, procedente de Iguape, S. Paulo, Brasil.

*Paratypos* — N.º 793 ( ♂ ), na collecção do Museu Paulista, oriundo da collecção Bicego e colhido em S. Bernardo, S. Paulo, Brasil.

N.º 789.B ( ♀ ), na collecção do Museu Paulista, colhido em Ypiranga, S Paulo, Brasil, pelo sr. H. Luederwaldt, assistente daquelle museu.

N.º 803 ( ♀ ), na collecção do Museu Paulista, com a indicação de Brasil, como procedencia.

Estes 2 exemplares ♀♀ apresentam apenas 2 poros femoraes, collocados distalmente, e o colorido menos intenso do que os ♂♂.

*Dimensões* —

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| N.º 787 — | Compr. total . . | 205 mm. | Compr. membro anterior. | 10 mm. |
| | " rostro-anal | 50 mm. | " membro posterior | 18 mm. |
| | " da cabeça. | 11 mm. | " cauda . . . . | 155 mm. |
| | Largura da cabeça | 7 mm. | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| N.º 793 — | Compr. total . . | 205 mm. | Compr. membro anterior. | 10 mm. |
| | " rostro-anal | 50 mm. | " membro posterior | 18 mm. |
| | " da cabeça. | 11 mm. | " cauda . . . . | 155 mm. |
| | Largura da cabeça | 7 mm. | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| N.º 789.B — | Compr. total | 150 mm.+n. | Compr. membro anterior. | 10 mm. |
| | " rostral-anal | 65 mm. | " membro posterior | 17 mm. |
| | " da cabeça. | 12 mm. | " cauda (reproduzida) | |
| | Largura da cabeça | 7,5 mm. | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| N.º 803 — | Compr. total . . | 120 mm. | Compr. membro anterior. | 8 mm. |
| | " rostro-anal | 39 mm. | " membro posterior | 12 mm. |
| | " da cabeça. | 7 mm. | " cauda . . . . | 81 mm. |
| | Largura da cabeça | 5 mm. | | |

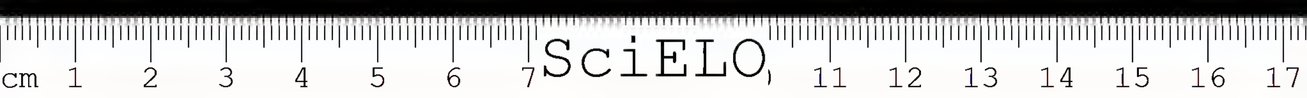
*Nota*: A presente especie é dedicada ao director do Museu Paulista, prof. A. d'E. Taunay, que teve a gentileza de pôr á minha disposição, para estudo, a collecção de lacertilios daquelle estabelecimento.

## Gen. **Colobosaura** BOULENGER

O genero *Colobosaura* Boulenger, 1887 era, até agora, conhecido apenas pela especie typica, *C. modesta* (R. & L.), cuja descripção no Catalogo do Museu Britannico (vol. II, pag. 423) se baseara em um unico exemplar ♀, precedente de "Morro de Garza" (sic), Brasil.

A meu ver, os caracteres differenciaes attribuidos por seu auctor á especie *C. kraepelin* (Werner, 1910), baseada em um exemplar ♂, representam apenas o dimorphismo sexual de *C. modesta* (R. & L.), devendo-se considerar o genero monotypico até o presente.





**Colobosaura mentalis**, sp. n.
(Figs. 46 — 50)

*Definição* — Corpo alongado e deprimido. Focinho sub-truncado. Palpebras desenvolvidas, a inferior formada de uma escama transparente. Ouvido exposto, tympano profundo. Fronto-nasal grande, 1 ½ vez tão larga quanto longa. Pre-frontaes e fronto-parietaes duplas e pentagonaes. Inter-parietal sub-hexagonal e estreita, tão longa quanto as parietaes largas. Algumas occipitaes ligeiramente augmentadas; supra-oculares 3, mediana maior; nasal 2 vezes tão longa quanto alta, com a narina proxima á borda inferior; frenal tão alta quanto longa; 3 supra-orbitarias; temporaes superiores augmentadas; 3 infra-orbitarias separando a orbita das 3 supra-labiaes medianas; 5 supra-labiaes e 5 infra-labiaes; mental anterior 2 vezes tão larga quanto longa; 3 pares de mentaes posteriores contiguos e seguidos, sobre a linha mediana, de 1 par de gulares grandes e de 1 par de pequenas e, em seguida, por 7 filas de escamas gulares augmentando para trás; 5 collares; 5 peitoraes, a mediana pontuda posteriormente. Escamas nucaes algo desenvolvidas, em 2, 1, ou 3 filas transversaes, todas lisas; 26 filas de escamas em redor do meio do corpo; dorsaes e caudaes hexagonaes lanceoladas, ligeiramente carinadas, imbricadas, dispostas em series transversaes; lateraes sub-arredondadas, lisas; ventraes sub-quadradas, lisas, em 4 filas longitudinaes e 18 transversaes. Membros pentadactylos: o anterior coberto de escamas lisas em baixo do braço e de placas tambem lisas em todo o resto; o posterior coberto de escamas na face supero-posterior e de placas na face antero-inferior, as 2 ultimas filas de placas e de escamas contiguas na aresta superior e carinadas; dedo anterior interno sem unha; 4 pre-anaes: 2 pequenas sobre a linha mediana e 2 grandes lateraes; 8 poros femoraes ( ♂ ).

*Coloração* — Dorso pardo, pintado de preto e branco nos lados; cabeça e nuca com uma faixa longitudinal pardacenta, tarjada de negro e gradualmente desapparecendo na região dorsal; face inferior amarellada, com alguns pingos pretos sobre a base das escamas.

*Holotypo* — N.º 788.A ( ♂ ), na collecção do Museu Paulista, colhido em Villa Nova, Bahia, Brasil, em 1908, pelo sr. Ernesto Garbe.

*Allotypo* — N.º 788.B ( ♀ ), na collecção do Museu Paulista, colhido igualmente em Villa Nova, pelo mesmo naturalista viajante.

O dimorphismo sexual é representado na femea pela ausencia de poros femoraes, pela sub-divisão em 2 de cada uma das grandes placas pre-anaes lateraes (ao todo 6), pelo maior numero de filas transversaes de placas abdominaes (21 em vez de 18) e pelo colorido mais claro, principalmente no ventre, que parece desprovido de pingos pretos.

*Dimensões* —

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Holotypo*: | Compr. | total | 170 mm. | Compr. | rostro-anal | | 51 mm. |
| | " | cabeça | 11 mm. | " | cauda | | 119 mm. |
| | Largura | " | 17 mm. | " | membro | anterior | 10 mm. |
| | | | | " | " | posterior | 18 mm. |
| *Allotypo*: | Compr. | total | 110 mm. | Compr. | rostro-anal | | 59 mm. |
| | " | cabeça | 11 mm. | " | cauda (reproduzida) | | |
| | Largura | " | 7 mm. | " | membro | anterior | 11 mm. |
| | | | | " | " | posterior | 17 mm. |

*Nota*: A especie *C. mentalis*, baseada em 1 ♂ e 1 ♀, embora affim de *C. modesta* (R. & L.), della se distingue pelo numero de placas gulares, pela irregularidade das nucaes e pelo colorido.

## Gen. **Gymnophthalmus** Merrem

### **Gymnophthalmus multiscutatus**, sp. n.

(Figs. 51 - 55)

*Definição* — Pequeno Teiideo, de aspecto semelhante a *G. lineatus* (L.). Fronto-nasal grande, pentagonal, mais larga do que longa; prefrontaes contiguas entre si; frontal pequena e estreita, pentagonal; fronto-parietaes ausentes; parietaes grandes, mais largas do que longas; inter-parietal grande e polygonal, mais longa do que larga e do que as parietaes; 2 supra-oculares, anterior muito grande, posterior transversal; 3 supra-orbitarias, posterior pequena; nasal alongada, com a narina bem ao centro; 1 frenal e 1 freno-orbitaria; 5 supra-labiaes e 5 infra-labiaes; mental anterior impar, 2 vezes tão larga quanto longa; 3 pares de mentaes posteriores, contiguas; escamas gulares em 10 filas, augmentando de tamanho para trás e para o meio. Escamas todas lisas, em 15 filas ao redor do meio do corpo (11 dorsaes e 4 ventraes), em 38 filas do occipicio á base da cauda e 28 filas da região collar á pre-anal. 6 poros femoraes de cada lado. Cauda conico-cylindrica, ponteaguda, coberta de escamas polygonaes, lisas.

*Coloração* — Pardacenta em cima, com o centro das escamas linearmente mais claro e formando 10 estrias longitudinaes; amarello-esbranquiçada, uniforme, em baixo.

*Nota*: Especie affim de *C. lineatus* (Linneu, 1758), de que se distingue facilmente pela escutellação cephalica, numero de poros femoraes e coloração.

*Holotypo* — N.° 448.A (♂), na collecção do Museu Paulista, colhido em Villa Nova, Bahia, Brasil, em 1908, pelo sr. Ernesto Garbe.

*Dimensões* —

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Compr. | total | 92 | mm. | Compr. | m. anterior | 6 | mm. |
| " | rostro-anal | 34 | mm. | " | " posterior | 11 | mm. |
| " | cabeça | 7 | mm. | " | cauda | 58 | mm. |
| Larg. | " | 4,5 | mm. | | | | |

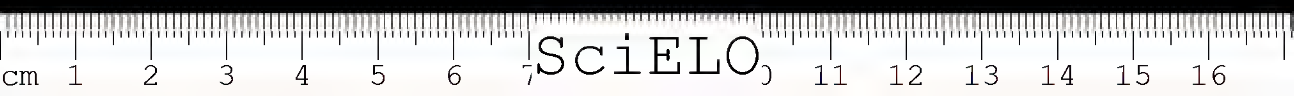
## ABSTRACT


In the course of a revisionary study of the lizards in the collection of the Museu Paulista, São Paulo, Brazil, the following forms have been found which seem to be new to science:

*Amphisbaena brachyura*, sp. n.; *A. albissima*, sp. n.; *Gonatodes spinulosus*, sp. n.; *Gymnodactylus conspicuus*, sp. n.; *Anolis nasofrontalis*, sp. n.; *A. pseudotigrinus*, sp. n.; *A. transfasciatus*, sp. n.; *A. garbei*, sp. n.; *Norops marmorata*, sp. n.; *Garbesaura garbei*, g. n., sp. n.; *Tapinurus scutipunctatus*, g. n., sp. n.; *Arthroseps fluminensis*, sp. n.; *Elaphrosaura spitzi*, g. n., sp. n.; *Anotosaura collaris*, g. n., sp. n.; *Colobodactylus taunayi*, g. n., sp. n.; *Colobosaura mentalis*, sp. n.; *Gymnophthalmus multiscutatus*, sp. n..


(Trabalho da Secção de Ophiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, terminado em junho de 1932).



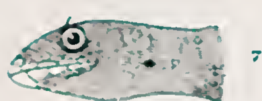


Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



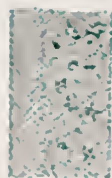








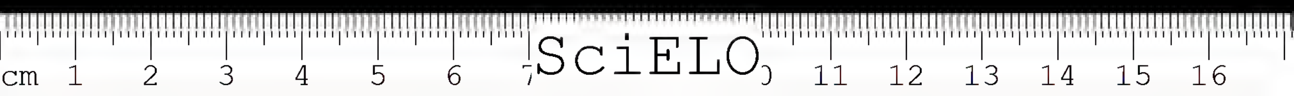


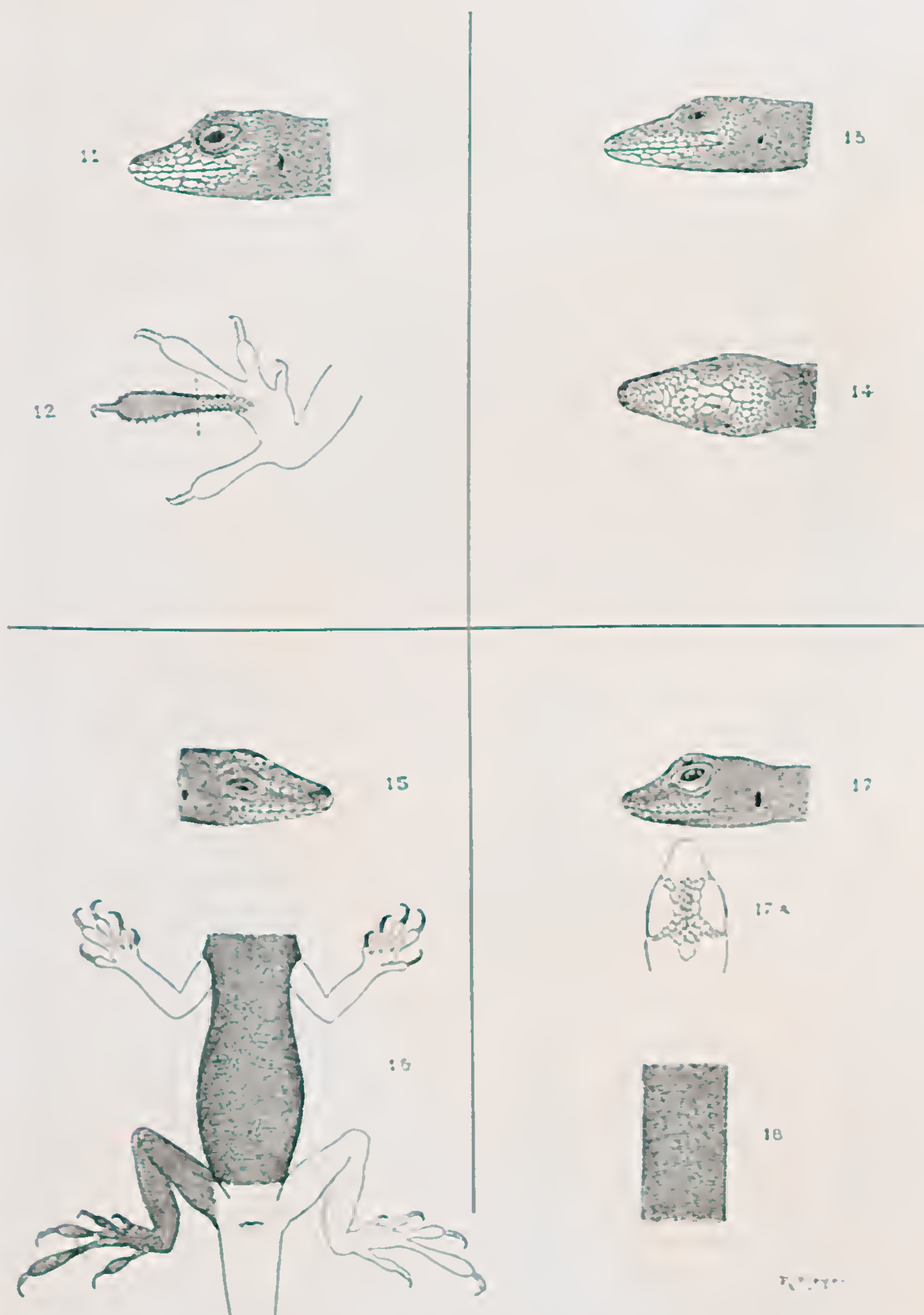




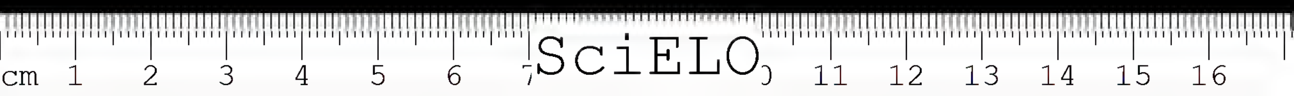


Figs. 1-3 — **Amphisbaena brachyura**, sp. n.
Figs. 4-6 — **Amphisbaena albissima**, sp. n.
Figs. 7, 8 — **Gonatodes spinulosus**, sp. n.
Figs. 9, 10 — **Gymnodactylus conspicuus**, sp. n.

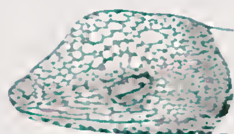

cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16




Figs. 11, 12 — **Anolis nasofrontalis**, sp. n.
Figs. 13, 14 — **Anolis pseudotigrinus**, sp. n.
Figs. 15, 16 — **Anolis transfasciatus**, sp. n.
Figs. 17, 18 — **Anolis garbei**, sp. n.


SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII. 1932





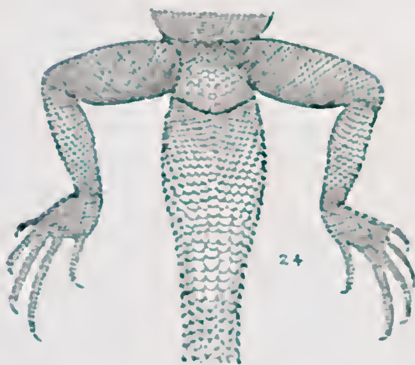








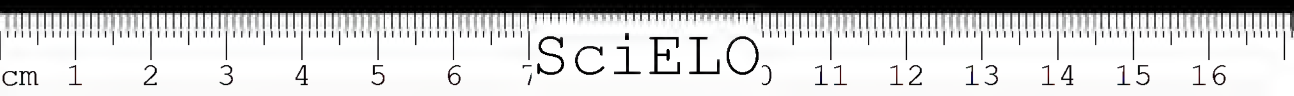


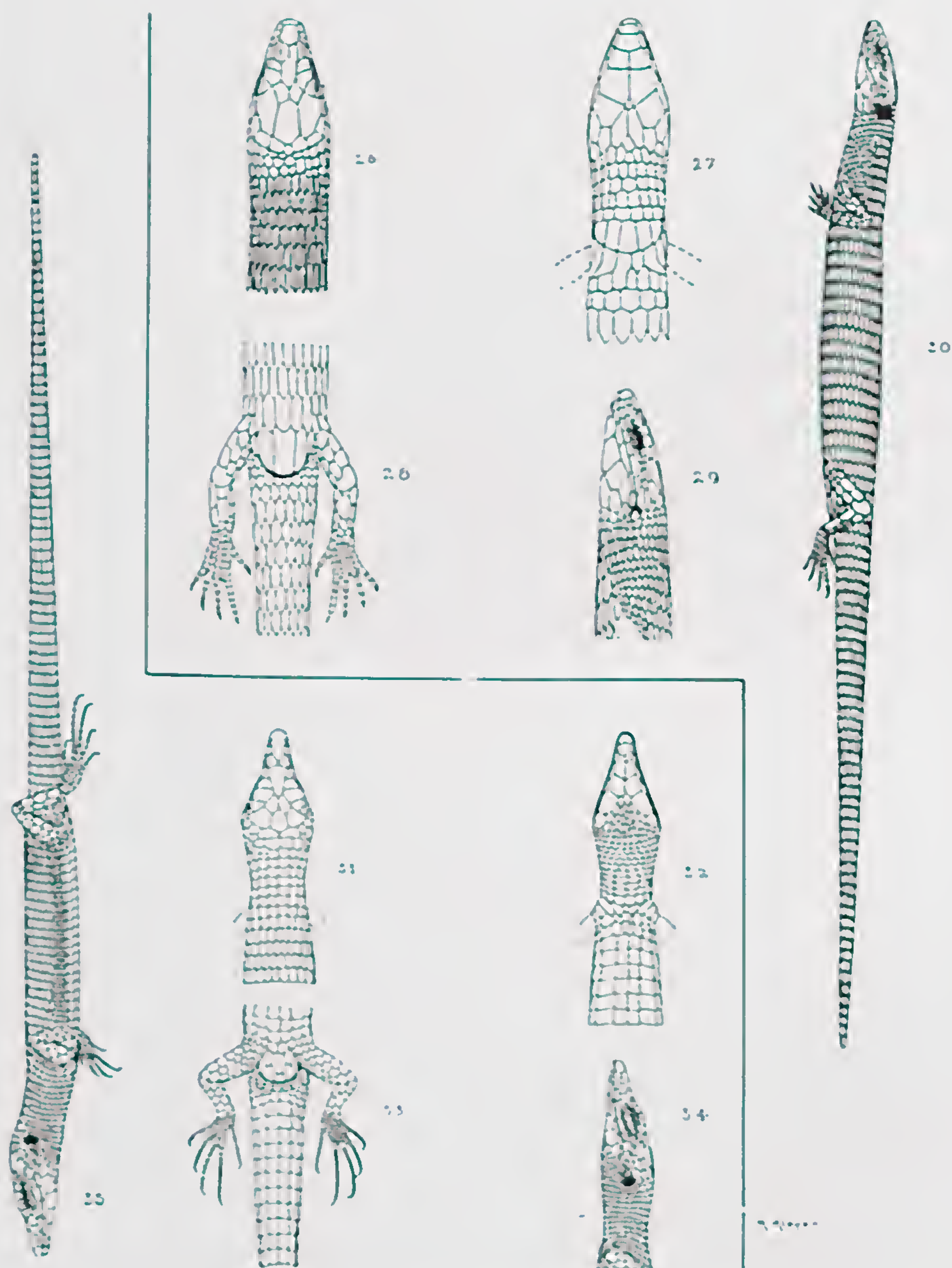





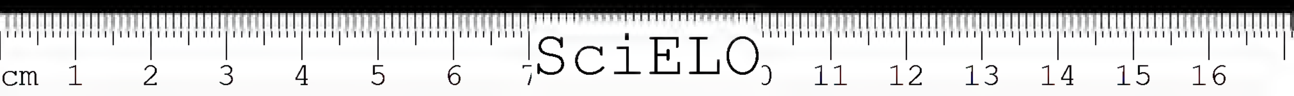


Figs. 19, 20 — **Norops marmorata**, sp. n.
Fig. 21 — **Garbesaura garbei**, gen. n., sp. n.
Figs. 22-25 — **Tapinurus scutipunctatus**, gen. n., sp. n.

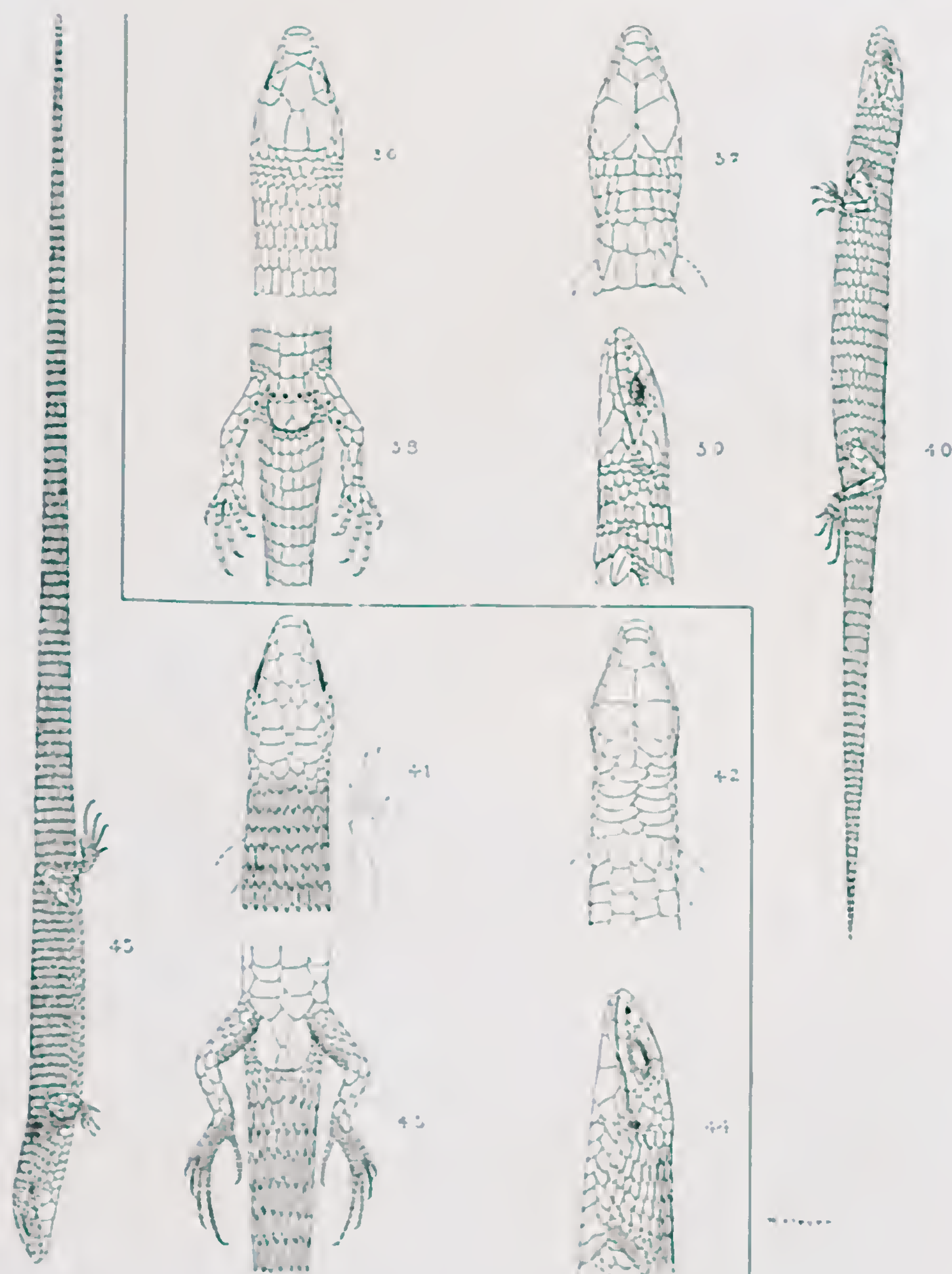

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16



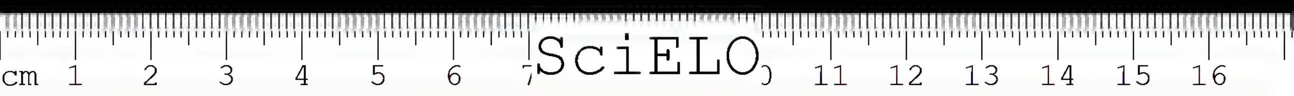

Figs. 26-30 — **Arthroseps fluminensis, sp. n.**
Figs. 31-35 — **Elaphrosaura spitzi, gen. n., sp. n.**


SciELO

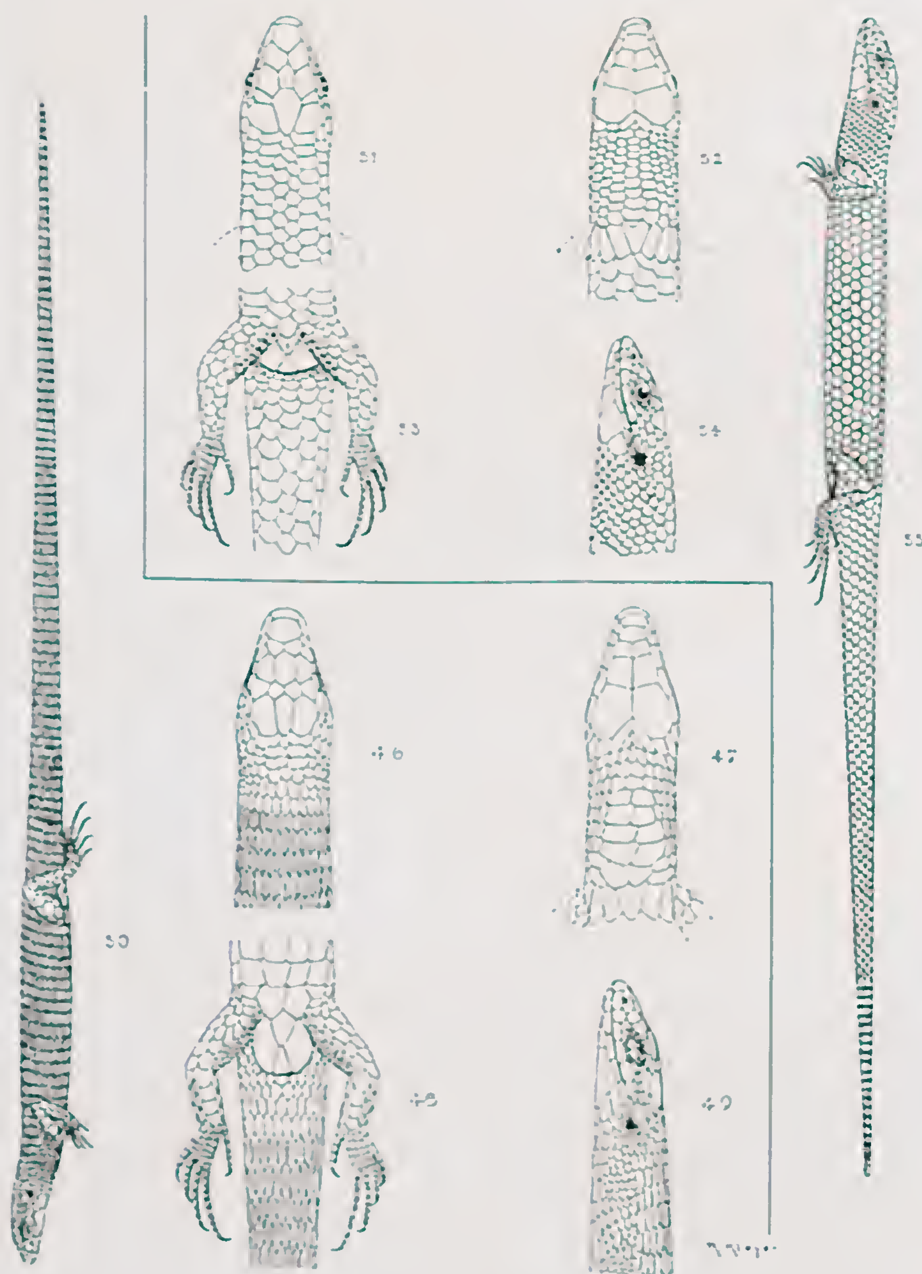
Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



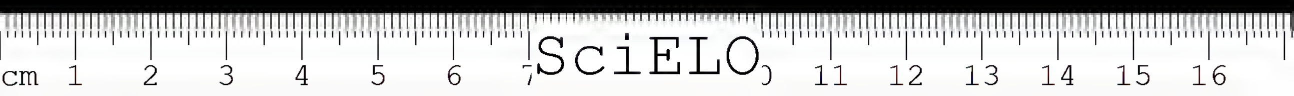

Figs. 36-40 — *Anotosaura collaris*, gen. n., sp. n.
Figs. 41-45 — *Colobodactylus taunayi*, gen. n., sp. n.


SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932




Figs. 46-50 — **Colobosaura mentalis**, sp. n.
Figs. 51-55 — **Gymnophtalmus multiscutatus**, sp. n.


SciELO

# NOTAS SOBRE CHROMATISMO DE OPHIDIOS

POR

AFRANIO DO AMARAL

---

*(com 1 trichromia e 20 gravuras no texto)*

---


SciELO

591.157:598.121

# NOTAS SOBRE CHROMATISMO DE OPHIDIOS

## I. Primeiro caso de erythrismo em serpente, observado no Brasil

POR

AFRANIO DO AMARAL

Apesar do avultado numero de serpentes vivas que o Instituto Butantan recebe de toda a região centro-meridional do Brasil e ás vezes da região septentrional, os casos de variação profunda de colorido dos exemplares são relativamente raros. Ainda no anno de 1931, o Instituto recebeu 22.310 exemplares vivos de serpentes, o que constitue um novo record, por signal superior, em quasi 4.000 especimes, ao observado em 1929, o qual por si só já representava um resultado sobremaneira apreciavel da intensiva campanha anti-ophidica desenvolvida por Butantan nas zonas ruraes. Pois bem, em 1931 apenas poucos exemplares chamavam a attenção pelo grau da variação chromatica. Alguns destes estão incluidos no grupo correspondente a alterações no typo de manchas e versado na nota seguinte (II). O ultimo, objecto do presente estudo, corresponde a uma interessante anomalia do pigmento em cobra coral.

Sob o nome de "cobras coraes", conforme já mostrei em publicação recente (1), se definem no interior do Brasil as seguintes especies:

I — Familia dos ANILIDEOS:

a) Cobra rudimentar, de vida aquatica (coral d'agua):

1. *Anilius scytale* . . . . . Bacia do Amazonas

II — Familia dos COLUBRIDEOS:

A. Serie áglypha (sem presas inoculadoras)

a) Cobras não venenosas, de vida aquatica (coraes d'agua):

2. *Urotheca elapoides euryzona* . Bacia do Amazonas
3. *Hydrops triangularis martii* . Bacia do Amazonas

b) Cobras não venenosas, de vida terrestre (coraes falsas):

| | | |
|---|---|---|
| 4. | *Lystrophis semicinctus* . . . | Matto Grosso |
| 5. | *Leiosophis bicinctus* . . . . | Bacia do Amazonas e Paraguay |
| 6. | *Simophis rhinostoma* . . . . | Zona centro-meridional |
| 7. | *Atractus claps* . . . . . | Zona equatorial |
| 8. | *Atractus latifrons* . . . . | Zona equatorial |

B. Serie opisthóglypha (com presas posteriores, rudimentares)

a) Cobras não venenosas, de vida terrestre (coraes falsas):

| | | |
|---|---|---|
| 10. | *Pseudoboa rhombifera* . . | Todo o país |
| 9. | *Pseudoboa trigemina* . . . | Zona meridional e centro-occidental |
| 11. | *Pseudoboa formosa formosa* | Zona centro-oriental |
| 12. | *Erythrolamprus aesculapii* . | Todo o país |
| 13. | *Elapomorphus tricolor* . . | Zona sul-occidental |

III — Familia dos ELAPIDEOS:

C. Serie proteróglypha (com presas anteriores, chanfradas)

a) Cobras venenosas, de vida terrestre (coraes verdadeiras):

| | | |
|---|---|---|
| 14. | *Micrurus buckleyi* . . . | Amazonia |
| 15. | *Micrurus psyches* (= *corallinus*) | Todo o país |
| 16. | *Micrurus decoratus* . . . | Serra do Mar |
| 17. | *Micrurus fischeri* . . . . | Serra da Bocaina |
| 18. | *Micrurus frontalis* . . . | Zona meridional |
| 19. | *Micrurus hemprichii* . . . | Amazonia |
| 20. | *Micrurus lemniscatus* . . | Zona tropical em geral |
| 21. | *Micrurus spixii* . . . . | Amazonia |
| 22. | *Micrurus surinamensis* . . | Zona equatorial |
| 23. | *Micrurus filiformis* . . . | Zona equatorial |

A' luz das observações por mim até agora realizadas parece que a especie *Pseudoboa trigemina* (D. & B.) é de todas as coraes a mais sujeita a variações chromaticas, talvez por ser a mais commum e espalhada. Já estudei alhures (2) um caso, talvez o primeiro registado em nossa literatura scientifica, de albinismo nesta especie, mostrando que no exemplar correspondente não existia, nem mesmo nos olhos, a melanina, que em individuos normaes representa cerca de 1/5 do pigmento total.

O exemplar agora estudado talvez seja ainda mais curioso, porque nelle não se encontrava o minimo traço de xanthina, que normalmente constitue cerca de 2/5 da pigmentação da referida especie *Pseudoboa trigemina*.

O exemplar incriminado de erythrismo e cuja gravura (Fig.) illustra esta nota, é um [illegible], No. 5890 na collecção do Instituto Butantan, capturado pelo sr. Edgard de Mello Borges, na localidade Monte Azul, S. Paulo e recebido vivo em Butantan no dia 8 de abril de 1931. Seus caracteres morphologicos principaes são os seguintes: temporaes 2 + 3; supralabiaes 8, 4.ª e 5.ª contiguas á orbita; infralabiaes 5/4 contiguas ás mentaes anteriores; escamas dorsaes em 19 series; escudos ventraes 199; anal inteira; subcaudaes 86 pares.

Seus caracteres chromaticos mais importantes consistem na ausencia completa dos aneis amarellados intermediarios do dorso e sua completa substituição por aneis vermelhos; na presença de 16 grupos dorsaes de aneis pretos triplos intercalados de outros vermelhos duplos e todos interrompidos no ventre, cujo colorido, ao invés de ser amarello claro, é virtualmente todo vermelho.

A conservação do colorido desse exemplar após a morte tem sido sobremodo difficultada pela extrema solubilidade do seu pigmento predominante (erythrina) em quaesquer liquidos com base de glycerina ou alcool.

Comprimento total 900 mm.; cauda 195 mm..

## ABSTRACT

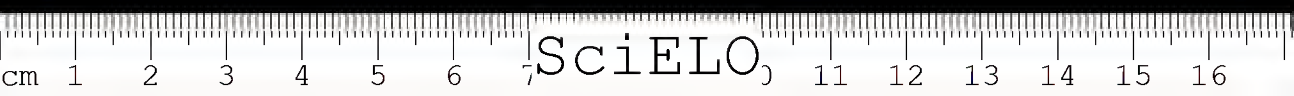
A very interesting case of erythrism is described as borne by a specimen of *Pseudoboa trigemina* (D. & B.), its predominant pigment (erythrin) being extremely soluble in any preservative solution containing either glycerin or ethyl alcohol.

---

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Amaral, A. do* — Animaes venenosos do Brasil pg. 18-19.1931.
2. *Amaral, A. do* — Albinismo em cobra coral *in* Rev.Mus.Paulista XV:1-9. 2 tabs. 1927.

(Trabalho da Secção de Ophiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, apresentado á Semana de Laboratorio, Soc. Med. e Cir. S. Paulo, Janeiro 1932).


SciELO

591.157:598.121-122

# NOTAS SOBRE CHROMATISMO DE OPHIDIOS

## II. Casos de variação de colorido de certas serpentes

POR

AFRANIO DO AMARAL

Em outra nota sobre erythrismo em coral, mostrei que, apesar do numero avultado de ophidios vivos que recebe o Instituto Butantan, só muito raramente conseguimos registar variações intensas entre os capturados em toda a região centro-meridional do Brasil. Esta raridade de variação indica talvez que, em nosso territorio, a ordem dos ophidios é representada por formas mais ou menos estabilizadas ontogeneticamente e isto explicaria tambem a extrema raridade de aberrações phylogeneticas.

Naquella nota mostrei que em 1931, alem de um caso de erythrismo em cobra coral, só recebêmos alguns outros exemplares de coloração anomala. Addicionando esses especimes, recebidos em 1931, a outros recebidos em outros annos, conseguimos perfazer o total de 22 novos exemplos de anomalia do typo das manchas dorsaes de serpentes brasileiras.

As especies portadoras dessas variações foram as seguintes:

a) *Simophis rhinostoma* (SCHLEGEL)

Na ordem systematica, a primeira especie a ser assignalada como portadora de variação no colorido é esta representante das coraes não venenosas.

Exemplar recebido da região de Cotia, S. Paulo.

O colorido typico do dorso dessa especie consiste em um fundo vermelho, salpicado de preto (sobre a ponta das escamas), com algumas triadas de aneis negros com os dois aneis intercalares da cor do fundo (vermelhos), mas bem pintados de negro.

O exemplar ora registado apresenta sobre o dorso apenas tres triadas de aneis perfeitos, duas triadas de aneis imperfeitos e cinco manchas lateraes com o colorido e formação dos aneis correspondentes (Fig. 1), á semelhança do que

occorre em certos individuos de *Lampropeltis micropholis* Cope, procedentes da região occidental da Colombia e do Equador.

Os principaes caracteres desse exemplar são os seguintes: N.° 7532, adulto, ♀, SpL. 8, E. dors. 15, V. 183, SbC. 54 p. + n.

b) *Pseudoboa petola* (L.)

Exemplares — 2, ambos recebidos da região de Corumbá, Matto Grosso.

Conforme mostrei em trabalho anterior (1), o colorido typico de exemplares desta especie procedentes do sul de Matto Grosso consiste principalmente na presença de estreitas faixas ou manchas transversaes amarelladas, interrompidas ás vezes sobre a linha vertebral e dispostas sobre o fundo do dorso que é de colorido castanho anegrado.

Os dois exemplares ora assignalados, Nos. 6427 e 6435 coll. Inst. Butantan, apresentam, ao invés disso, sobre o fundo pardo anegrado do dorso, numerosas manchas annulares ou semi-annulares de intenso colorido vermelho, margeadas de amarello e interrompidas de preto (pintas pretas correspondentes ás pontas das escamas) e distribuidas pelos 2/3 posteriores do corpo; para a frente, o vermelho desapparece gradualmente, sendo substituido pelo amarello que volta a constituir aneis, interrompidos, como os posteriores, de preto; região occipital até a nuca vermelha pintada de preto (Fig. 2).

Os presentes exemplares revelam os seguintes caracteres principaes:

No. 6427, adulto, ♀, SpL. 8, E. dors. 19, V. 225, SbC. 77 p..
No. 6435, adulto, ♀, SpL. 8, E. dors. 19, V. 219, SbC. 30 p. + n.

c) *Crotalus terrificus terrificus* (Laur.)

Exemplares — 3.

A respeito desta forma já tive occasião (2) de assignalar 3 individuos albinos e 1 de colorido anomalo (3), sendo que todos esses exemplares procediam do interior do Estado de S. Paulo.

1. Exemplar anomalo, recebido de Araçatuba, S. Paulo.

O presente especime, N.° 5252 coll. Inst. Butantan, é um jovem que apresenta de cada lado da linha vertebral uma estria pontilhada amarella (Fig. 3), em continuação da normalmente existente de cada lado da nuca e em substituição ás manchas rhomboidaes escuras, de bordos amarellos, tão caracteristicas da raça.

Seus caracteres principaes são os seguintes: jovem, ♂, SpL. 15/13, E. dors. 26, V. 172, SbC. 12 + 10 p..

A presente variação, já esteriotypada em parte no 4.° exemplar da serie anterior, parece corresponder ao exaggero da tendencia que a variedade sul-brasileira da raça cisandina da cascavel neotropica (4) costuma apresentar, divorciando-se, assim, progressivamente da raça transandina e centro-americana, caracterizada pela notavel tendencia ao encurtamento do par de estrias nucaes e predorsaes.

2. Exemplar No. 7777, recebido de Monte Christo, Minas Geraes.

Ao contrario do exemplar anterior em que se deu o alongamento nitido do par de estrias longitudinaes da nuca, que passou a estender-se até bem alem do meio do corpo, o presente exemplar apresenta as estrias nucaes normaes e uma notavel dilatação transversal (Fig. 4) das manchas rhomboidaes, cujos extremos lateraes passam a confundir-se com as manchas existentes ao longo da região ventral. A primeira impressão que se tem ao ver-se este exemplar é que se trata de um representante da especie *Crotalus molossus* D. & B..

Seus caracteres principaes são os seguintes: adulto, , SpL. 15/13, E. dors. 27, V. 168, SbC. 25 + 6 p..

3. Exemplar recebido de Ipaussú, S. Paulo. Este exemplar, N.º 7531 coll. Inst. Butantan, é um albino adulto, que, á semelhança dos 3 primeiros individuos por mim assignalados em trabalho anterior (2), não apresenta siquer um minimo signal de suas estrias ou marcas dorsaes (Fig. 5); sua coloração no dorso é pardo-acastanhada, tornando-se cada vez mais clara á proximidade da face ventral que é inteiramente amarella clara.

Seus principaes caracteres geraes são os seguintes: adulto, , SpL. 13, E. dors. 27, V. 173, SbC. 18 + 4 p..

d) *Bothrops jararaca* (Wied)

Exemplar recebido de Paulo Frontin, Paraná.

Em trabalho anterior (5) eu registei a occorrencia, nas manchas dorsaes desta especie, de algumas variações, representadas por: constricção; divisão longitudinal; divisão transversa; reducção transversa e expansão longitudinal; expansão longitudinal e anastomose; constricção total; expansão longitudinal e estreitamento; finalmente, apagamento e confusão com o colorido do fundo.

O exemplar agora observado, No. 5253 coll. Inst. Butantan, apresenta, nos 2/3 anteriores do dorso e ao longo de cada flanco, uma faixa negra, margeada superior e inferiormente de branco (Fig. 6). Representa, pois, um caso de expansão longitudinal e anastomose das manchas dorsaes sub-triangulares, encontradiças nos individuos normaes.

Caracteres principaes: adulto, , SpL. 8, E. dors. 27, V. 194, SbC. 46 p..

e) *Bothrops alternata* D. & B.

Exemplares — 3.

Mostrei alhures (6) que a nossa urutú é sujeita a duas modalidades de variação das manchas dorsaes: fusão transversal das maculas semi-lunares ou sua extensão longitudinal com anastomose. Aquella fôra por mim assignalada, pela primeira vez, no exemplar No. 3005 coll. Inst. Butantan, oriunda de Ponta Grossa, Paraná. A extensão longitudinal, que empresta ao systema de manchas um caracter linear ou semi-linear foi por mim registada no exemplar No. 3009 coll. Inst. Butantan, procedente de Bagé, Rio Grande do Sul.

1. O novo caso de anomalia, observado no exemplar No. 6195 coll. Inst. Butantan, é representado igualmente por extensão longitudinal e anastomose de manchas dorsaes, de permeio com alguns semilunios subnormaes persistentes (Fig. 7). Este exemplar e o de N.° 3009 apresentam, como variação individual, um colorido visivelmente identico ao que Magalhães (7) assignalara em especimes procedentes da região de S. Lourenço, á margem da Lagoa dos Patos, tambem no Rio Grande do Sul, e que lhe servira á descripção da sua *Lachesis inaequalis*, que eu mostrei (6) ser synonyma de *Bothrops alternata* D. & B..

O exemplar N.° 6195 foi recebido da localidade Sertão, Estado do Rio Grande do Sul e apresenta os seguintes caracteres principaes: adulto, ♂, SpL. 9, E. dors. 29, V. 168, SbC. 38 p..

2/3. *Nota*: A anomalia chromatica constante nesse exemplar de N.° 6195 e no de N.° 3009 parece não ser das mais raras, porquanto ainda recentemente dois outros exemplares, recebidos no Instituto Butantan, a apresentavam bem nitida: N.° 7865, procedente da localidade Carambehy, Estado de S. Paulo e N.° 7866, oriundo da localidade Ponta Grossa, Paraná.

f) *Bothrops cotiara* (Gomes)

Exemplares — 2, ambos recebidos de Santa Catharina.

No ultimo de meus trabalhos citados (pg. 53, tab. XII — fig. 5) registei um exemplar, N.° 3004 coll. Inst. Butantan, cujas manchas dorsaes apresentavam notavel tendencia ao alongamento e coalescencia.

1. A' anomalia então registada corresponde perfeitamente a observada no exemplar No. 5104 coll. Inst. Butantan, recebido de Herval, Santa Catharina, e que, á semelhança do outro, retem ainda algumas manchas quasi normaes, principalmente na parte posterior do corpo (Fig. 8).

Seus caracteres principaes são: adulto, ♀, SpL. 9/8, E. dors. 28, V. 168, SbC. 39 p..

2. Em um outro individuo, N.° 6732, recebido de Porto União, Santa Catharina, occorre uma anomalia ainda mais curiosa, por consistir na completa fusão de cada mancha triangular paravertebral com o par correspondente paraventral, de sorte a formar, ao longo de cada flanco, uma serie de marcas imitando perfeitamente um V de cabeça para baixo (Fig. 9) e simulando de algum modo os semi-ocellos encontrados na especie *B. alternata* D. & B..

Seus caracteres principaes são: adulto, ♂, SpL. 8, E. dors. 27, V. 166, SbC. 48 p..

g) *Bothrops neuwiedii* (Wagler)

Exemplares — 11.

Em monographia anterior (8) subdividi a jararaca pintada em varias raças geographicas, a que correspondem interessantes modalidades de colorido e de typos de marcas, conforme então figurei. Essas raças são as seguintes: *B. neuwiedii*

*neuwiedii*, *B. neuwiedii bahiensis*, *B. neuwiedii piauhyensis*, *B. neuwiedii goyazensis*, *B. neuwiedii minasensis*, *B. neuwiedii pauloensis*, *B. neuwiedii mattogrossensis*, *B. neuwiedii paranaensis* e *B. neuwiedii riograndensis*.

Algumas vezes, todavia, as marcas dorsaes dessas raças apresentam grandes anomalias, ao ponto de emprestarem aos exemplares uma feição inteiramente nova, capazes de gerar lamentaveis confusões diagnosticas. E', por exemplo, o que occorre com a serie que tenho agora em mão e constituida pelos seguintes exemplares:

*B. neuwiedii riograndensis* Amaral

N.° 6876 coll. Inst. Butantan, recebido de Ijuhy, Rio Grande do Sul, apresenta uma intensa subdivisão e constricção das manchas paravertebraes (Fig. 10), colorido que lhe empresta um aspecto semelhante ao encontradiço em certos exemplares da especie nearctica de cascavel, *Crotalus trisscriatus* (Wagler).

Principaes caracteres: adulto, ♀, Spl., 8, E. dors. 27, V. 181, SbC. 41 p..

*B. neuwiedii mattogrossensis* Amaral

N.° 6928 coll. Inst. Butantan, recebido de Nhecolandia, Matto Grosso, apresenta uma consideravel rarefacção da melanina e preponderancia de areas albinisticas ao longo do dorso, o que lhe empresta ás manchas paravertebraes um relevo notavel (Fig. 11).

Principaes caracteres: adulto, ♂, Spl.. 8, E. dors. 21, V. 173, SbC. 56 p..

*B. neuwiedii minasensis* Amaral

1. N.° 7778 coll. Inst. Butantan, recebido de Varginha, Minas Geraes, apresenta o colorido do fundo do dorso verde-olivaceo com largas manchas paravertebraes, bem distinctas e separadas dos ocellos paraventraes (Fig. 12) de sorte a simular o chromatismo normal de *B. cotiara* (Gomes).

Principaes caracteres: adulto, ♂, Spl.. 8, E. dors. 25, V. 176, SbC. 51 p..

2. N.° 6877 coll. Inst. Butantan, recebido de Santa Rita da Extrema, Minas Geraes, apresenta um interessante augmento do numero e reducção do tamanho das manchas vertebraes que são pouco maiores do que os seus ocellos intermediarios e de cada lado do pescoço, se encontram fundidas longitudinalmente entre si e com a mancha occipito-nuchal (Fig. 13) do lado correspondente. Neste exemplar o colorido não poderia de modo algum contribuir para a identificação da especie cujo reconhecimento foi baseado no comportamento *intra-vitam*, conformação e physionomia do individuo, comprovados pelos seguintes caracteres anatomicos: adulto, [illegible], Spl.. 8, E. dors. 27, V. 170, SbC. 44 p..

3. N.° 5254 coll. Inst. Butantan, recebido de Carandahy, Minas Geraes, apresenta uma nitida tendencia ao arredondamento dos bordos das manchas paravertebraes e sua completa fusão com os ocellos paraventraes (Fig. 14) sobre um fundo amarello-olivaceo, de sorte a simular perfeitamente certos exemplares

de *B. jararaca* (Wied), dos quaes se pode distinguir, todavia, pelos caracteres anatomicos, conformação, physionomia e colorido do ventre.

Caracteres principaes: adulto, ♀, SpL. 8, E. dors. 25, V. 173, SbC. 42 p..

*B. neuwiedii pauloensis* Amaral

1. N.º 6927 coll. Inst. Butantan, recebido de Visconde do Rio Claro, S. Paulo, apresenta grande reducção do colorido escuro do fundo do dorso com preponderancia do branco que occorre em proporção exaggerada ao longo da região paraventral e principalmente nas tarjas das manchas paravertebraes com uma regularidade e nitidez notaveis (Fig. 15).

Caracteres principaes: adulto, ♀, SpL. 8, E. dors. 24, V. 179, SbC. 48 p..

2. N.º 6875 coll. Inst. Butantan, recebido de Joá, S. Paulo, apresenta um completo apagamento dos caracteres das manchas negras paravertebraes, das quaes apenas 4 se encontram isoladas, achando-se todas as demais fundidas em uma longa faixa longitudinal tarjada de branco superiormente, ao longo de cada flanco até perto da base da cauda (Fig. 16). Essa anomalia chromatica já havia sido por mim registada em relação ás especies *B. jararaca*, *B. alternata* e *B. jararacussu*.

Caracteres principaes: adulto, ♀, SpL. 8, E. dors. 25, V. 184, SbC. 39 p..

3. N.º 6929 coll. Inst. Butantan, recebido de Ezequiel Ramos (Avaré), S. Paulo, apresenta uma distincta tendencia á reducção e polymorphismo das manchas paravertebraes que, na parte anterior do dorso, não se podem distinguir dos ocellos intermediarios (Fig. 17).

Caracteres principaes: adulto, ♂, SpL. 8, E. dors. 25, V. 177, SbC. 8 + 42 p..

4. N.º 5401 coll. Inst. Butantan, recebido de Cerrado, S. Paulo, apresenta uma consideravel reducção numerica (rarefacção) das manchas paravertebraes, acompanhada de fusão dos ocellos paraventraes que occorrem como curtas estrias longitudinaes (Fig. 18).

Caracteres principaes: adulto, ♂, SpL. 8, E. dors. 21, V. 175, SbC. 47 p..

5. N.º 5795 coll. Inst. Butantan, recebido de Santa Elisa, S. Paulo, apresenta um quasi completo desapparecimento das manchas paravertebraes que se acham reduzidas a apenas 4 ao longo de todo o dorso e desapparição completa de todos os ocellos paraventraes (Fig. 19), de sorte que a identificação especifica só se póde basear no comportamento, conformação, physionomia e nos seguintes caracteres morphologicos: adulto, ♀, SpL. 9/8, E. dors. 26, V. 173, SbC. 46 p..

6. N.º 4758 coll. Inst. Butantan, recebido de Mococa, S. Paulo, apresenta, finalmente, um completo desapparecimento de todos os systemas de manchas dorsaes, com preservação apenas de indicios das manchas supracephalicas (Fig. 20). Todavia, seus caracteristicos physiologicos são inconfundiveis e acham-se confirmados pelos seguintes principaes caracteres anatomicos: adulto, ♂, SpL. 8, E. dors. 25, V. 172, SbC. 46 p..

## ABSTRACT

Chromatic variations are a rather rare occurrency among snakes. However, a scrutiny conducted at the Instituto Butantan and based on the abundant live material (over 20.000 specimens a year) it receives from the central-southern section of Brazil has brought to light 21 new examples of colour variation.

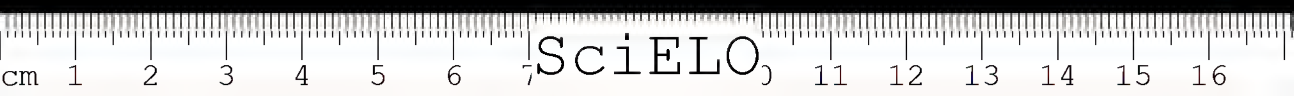
The species to which these examples belong are the following: *Simophis rhinostoma*, *Pseudoboa petole*, *Crotalus terrificus* (race *terrificus*), *Bothrops jararaca*, *B. alternata*, *B. cotiara*, *B. neuwiedii* and its races *riograndensis*, *mattogrossensis*, *minasensis* and *pauloensis*.

---

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Amaral, A. do* — Ophidios de Matto Grosso. Contribuição II para o conhecimento dos ophidios do Brasil *in* Publ. N.° 84. Annexo N.° 5. Hist. Nat. Comm. L. T. E. Matto Grosso ao Amazonas: 20-21.1925.
2. *Amaral, A. do* — Da occorrencia de albinismo em cascavel. *C. terrificus* (Laur.) *in* Rev. Mus. Paulista XV:56-57. figs. 1-3.1927.
3. *Amaral, A. do* — Variações das marcas dorsaes de *Crotalus terrificus in loc. cit.* :91. fig. 3.
4. *Amaral A. do* — Studies of Nearctic Ophidia. VI. Phylogeny of the rattlesnakes *in* Bull. Antivenin Inst. of America III(1):6-8.1929; Anales Soc. Cient. Argentina CVII:369 et seq. 1929; Mem. Inst. Butantan IV:242-245.1929.
5. *Amaral, A. do* — On the variation of dorsal markins in *Bothrops jararaca* (Wied, 1824) *in* Contrib. Havard Inst. Trop. Biol & Med. II:44-46. tabs. VIII.IX.1925.
6. *Amaral, A. do* — On the variation of dorsal markings in three Brazilian pit-vipers *in loc cit.* :54-55. tab. XII. figs. 6, 7.
7. *Magalhães, O.* — Contribuição para o estudo dos ophidios brasileiros *in* Mem. Inst. Oswaldo Cruz XVIII(1):153-154. tab. VII-XII.1925.
8. *Amaral, A. do* — Brazilian subspecies of *Bothrops neuwiedii* Wagler, 1824 *in loc. cit.* :56-62. tabs. XIV-XVI.

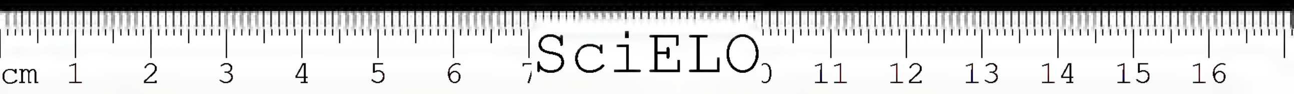
(Trabalho da Secção de Ophiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, completado em dezembro de 1932).


SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



Pseudoboa trigemina (D. & B.)


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



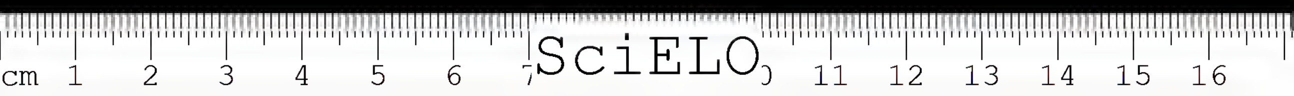
Fig. 1

**Simophis rhinostoma** (SCHLEGEL). N.° 7532 coll. Inst. Butantan



Fig. 2

**Pseudoboa petola** (L.). N.° 6135 coll. Inst. Butantan


SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932

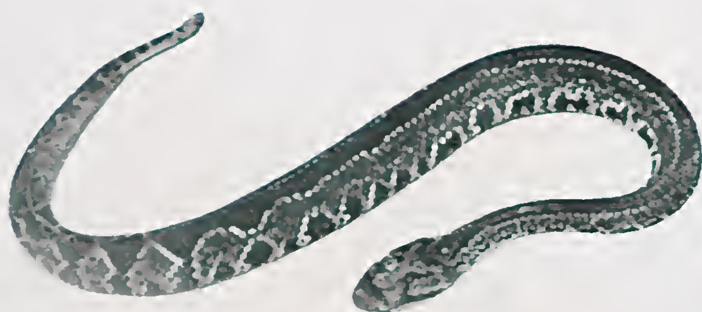


Fig. 3

N.º 5252 coll. Inst. Butantan

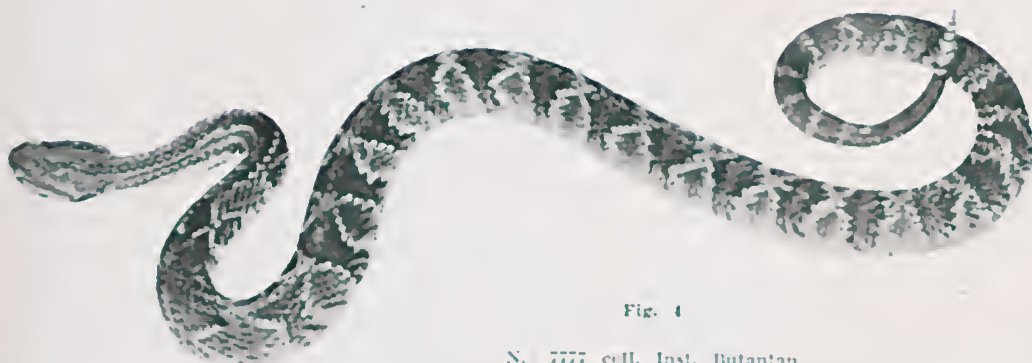


Fig. 4

N. 7777 coll. Inst. Butantan

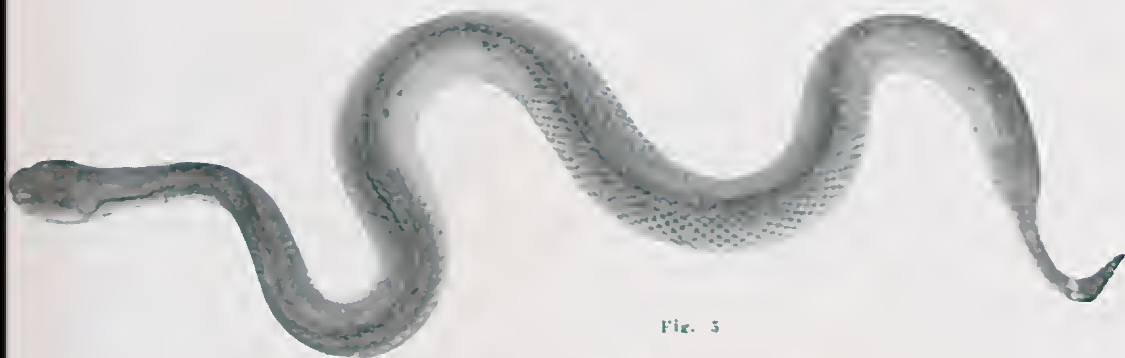
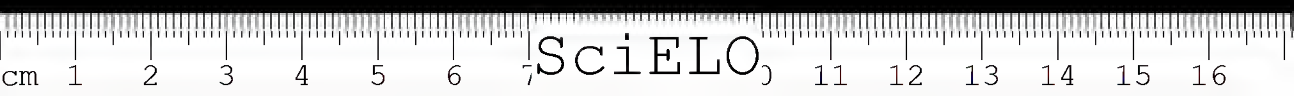


Fig. 5

N.º 7531 coll. Inst. Butantan

**Crotalus terrificus terrificus (LAUR.) AMARAL**


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



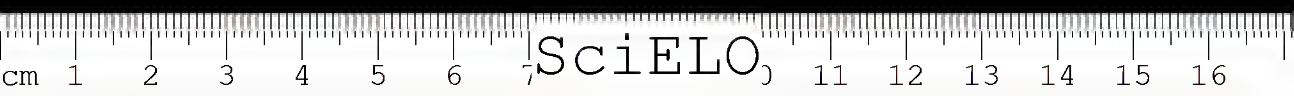
Fig. 6

Bothrops jararaca (WIED). N.° 5253 coll. Inst. Butantan



Fig. 7

Bothrops alternata (D. & B.). N.° 6195 coll. Inst. Butantan


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



Fig 8

N.º 5104 coll. Inst. Butantan



Fig 9

N.º 6732 coll. Inst. Butantan

Bothrops cotiara (GOMES)

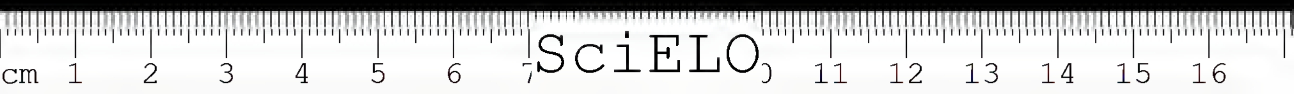

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16



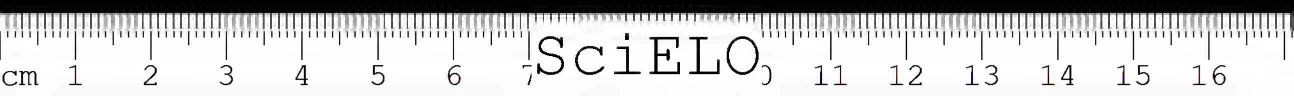
Fig. 10

Bothrops neuwiedii riograndensis AMARAL. N.° 6876 coll. Inst. Butantan



Fig. 11

Bothrops neuwiedii mattogrossensis AMARAL. N.° 6928 coll. Inst. Butantan


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



Fig. 12

N.º 7778 coll. Inst. Butantan



Fig. 13

N.º 6877 coll. Inst. Butantan

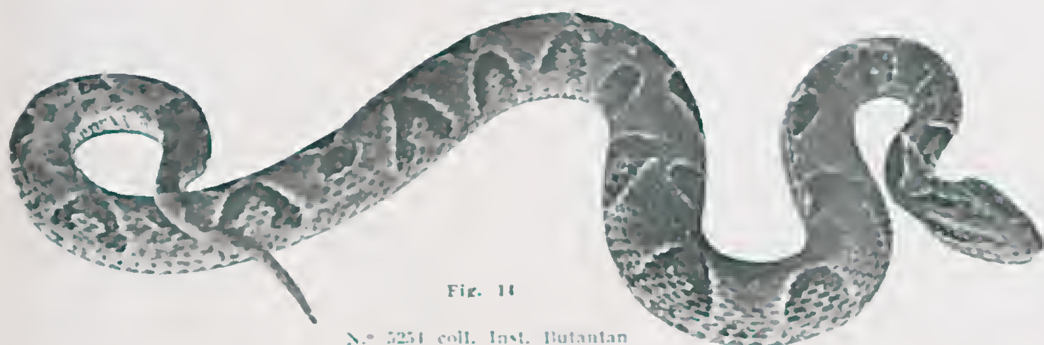
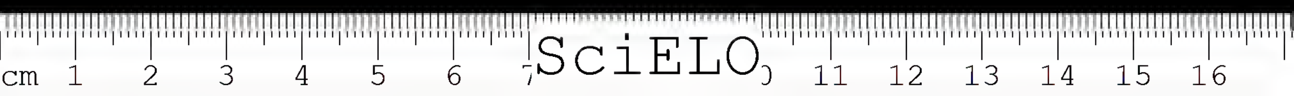


Fig. 14

N.º 5251 coll. Inst. Butantan

**Bothrops neuwiedii minasensis AMARAL**


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



Fig. 15

N.º 6927 coll. Inst. Butantan



Fig. 16

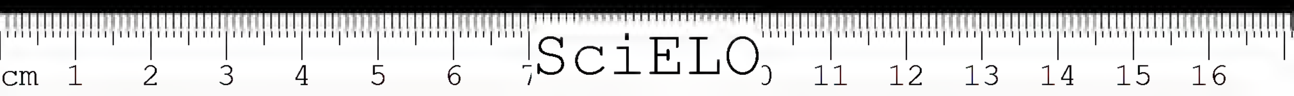
N.º 6875 coll. Inst. Butantan



Fig. 17

N.º 6929 coll. Inst. Butantan

Bothrops neuwiedii pauloensis AMARAL


SciELO

# CONTRIBUIÇÃO Á BIOLOGIA DOS OPHIDIOS DO BRASIL

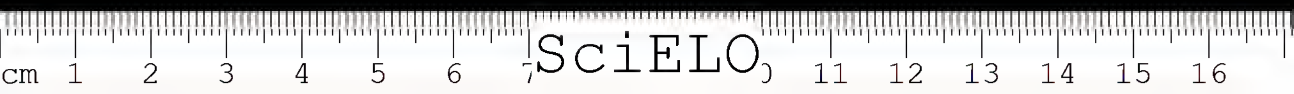
POR

AFRANIO DO AMARAL

---

*(com 3 gravuras no texto)*

---


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16

591.52:598.121:981

# CONTRIBUIÇÃO Á BIOLOGIA DOS OPHIDIOS DO BRASIL

## III. Habitos curiosos da especie *Tachymenis brasiliensis* Gomes (*Colubridae, Boiginae*)

POR

AFRANIO DO AMARAL

Em 1918, Gomes descreveu esta interessante especie, tendo assignalado que os respectivos exemplares foram capturados em terreno pantanoso, durante um serviço de drenagem feito nas vizinhanças do Instituto Butantan (1). Essa verificação foi depois por mim comprovada e completada com a observação de possuir a especie alludida habitos semi-subterraneos, tanto que seus representantes costumam correr nas margens dos regatos e brejos com agua corrente, nas quaes se abrigam, perfurando a lama com uma facilidade enorme e buscando minhocas e insectos, de que se alimentam.

Alem dessa particularidade possue a alludida especie uma outra ainda mais interessante e até agora singular entre os ophidios que occorrem no Brasil. Essa singularidade dos exemplares de *Tachymenis brasiliensis* consiste em sua constante tendencia em se contorcerem em varios sentidos e formarem afinal, quando molestados, verdadeiras espiraes muito regulares, conforme se vê da Fig. 1.

E' verdade que o simples contorcimento do corpo costuma ser apresentado pelas especies de boideos, *Epicrates crassus* Cope e *E. cenchria* (L.), na região neotropica e *Charina bottae* (Blainville), na região nearctica (2), as quaes no entanto se enrodilham irregularmente procurando esconder a cabeça e a cauda sem jamais tentar formar uma perfeita espiral como no caso da especie ora assignalada.

### ABSTRACT

*Tachymenis brasiliensis* Gomes is a burrowing species living usually in ditches and brooks in the banks of which it seeks both shelter and food. It also

bears the peculiar habit of making a perfect series of winding twists whenever it is held loosely.

---

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Gomes, J. Florencio* — Descripção de 2 especies novas *in* Memorias do Instituto Butantan I(1):79.1918.
2. *Ditmars, R. L.* — The reptile book (Doubleday, Page & C.º, New York) :212.1908.

**(Trabalho da Secção de Ophiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, dezembro de 1932).**

591.56:598.122

# CONTRIBUIÇÃO Á BIOLOGIA DOS OPHIDIOS DO BRASIL

## IV. Sobre um caso de necrophilia heterologa na jararaca *(Bothrops jararaca)*

POR

AFRANIO DO AMARAL

Em notas anteriores (1, 2), tratando da biologia dos ophidios do Brasil, eu me occupei do habitat, habitos e alimentação, e da reproducção da maioria de nossas especies, á luz das observações por mim conduzidas, a partir de 1919, nos cobris do Instituto Butantan.

Descrevendo a copula dos ophidios, assim me exprimi:

> "A copula que se dá em via de regra entre agosto e outubro na maioria das especies ou, excepcionalmente, entre janeiro e março ou em outras epocas em algumas especies, é muito demorada, pois dura no minimo 6 a 12 horas, levando, porém, algumas vezes, até mais de 24 horas.
>
> Na occasião do cio, o macho começa a cavalgar a femea, agitando freneticamente o corpo, como se estivesse accionado por uma corrente electrica, e procurando entrelaçar a sua cauda á da femea.
>
> Esta, conforme succede com a de outras especies animaes, a principio recusa e procura fugir á consumação do acto, mas ao cabo de certo tempo cede á pressão do macho e só então o acceita, entrelaçando a cauda com a delle."

Pode-se dizer que, salvantes certas variações mais ou menos profundas de accordo com as especies em apreço, os actos successivos da copula normal dos ophidios cabem dentro dessa descripção (Fig. 1).

A copula anormal delles, isto é, entre individuos vivos de especies differentes obedece igualmente ao mesmo mecanismo, embora nesse caso os actos preparato-

rios sejam muito mais demorados, necessitando visivelmente de um exaggerado grau de excitação sexual por parte de ambos os sexos.

Apesar do numero enorme de ophidios vivos conservados nos ophidiarios do Instituto, nunca me havia sido dada a opportunidade de registar o phenomeno que serve de objecto á presente nota e que, por não o ter eu ainda visto descripto na literatura, vai aqui devidamente documentado com uma photographia tirada no momento em que o mesmo se consumava (Fig. 2).

Conforme se depreende dessa photographia, trata-se da copula de um pequeno ♂ da jararaca, *Bothrops jararaca* (Wied), com uma ♀, de tamanho medio, da cascavel, *Crotalus terrificus* (Laur.), já morta e em estado de rigidez cadaverica. A copula, que provavelmente se havia iniciado á noite ou pela madrugada do dia 11 de fevereiro, foi observada, durante algumas horas, na manhã desse dia. Apesar das varias e repetidas manipulações que soffreu, o individuo ♂ só ultimou o acto por volta das 11 horas, quando se retirou para o interior de um dos cubiculos do ophidiario em que tinha sido posto, não tendo, depois disso, sido visto novamente a praticar actos dessa natureza.

O que, porém, torna sobremodo interessante o presente caso é que, alem do heterologismo dos individuos copulantes e da necrophilia do ♂ actuante, houve emissão de esperma, conforme ficou comprovado á necropsia da ♀.

## ABSTRACT

Necrophilism among snakes is a very rare occurrence as it seems never to have been dealt with in the scientific literature. The present case of necrophilism took place between a small adult ♂ of *Bothrops jararaca* and a dead medium-sized ♀ of *Crotalus terrificus*.

---

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Amaral, A. do* — Com. Soc. Med. & Cir. S. Paulo 1.IX.1921 *et* Collectanea dos Trabalhos do Inst. Butantan II:175-181.1918-24
2. *Amaral, A. do* — Com. Soc. Med. & Cir. S. Paulo 15.X.1921 *et* Collectanea dos Trabalhos do Inst. Butantan II:185-187.1918-24.

(Trabalho da Secção de Ophiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, dezembro de 1932)



Fig. 1

*T. brasiliensis* em attitude de defesa



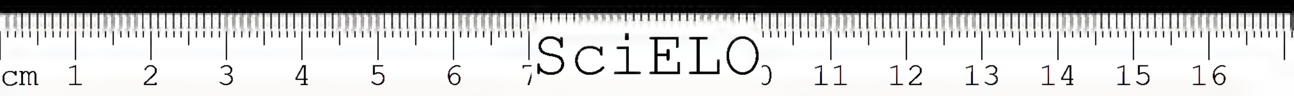
Fig. 2

Copula normal de *Xenodon guentheri* BLGR.



Fig. 3

Caso de necrophilia heterologa { ♂ Bothrops jararaca (WIED) / ♀ Crotalus terrificus terrificus (LAUR.)


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16

# CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DOS OPHIDIOS DO BRASIL

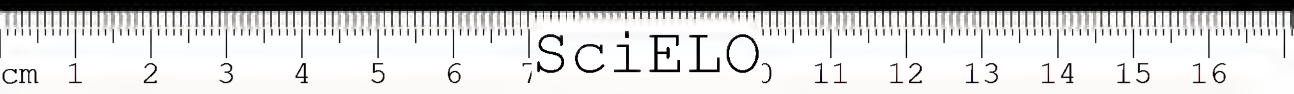
POR

AFRANIO DO AMARAL

---

*(com 4 gravuras no texto)*

---


SciELO

598.122:981

# CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DOS OPHIDIOS DO BRASIL

## V. Uma nova raça de *Bothrops neuwiedii*

POR

AFRANIO do AMARAL

Ha dois annos, descrevi (1), sob o nome de *Bothrops neuwiedii meridionalis* a subespecie da jararaca pintada que occorre na região centro-septentrional da Argentina. Ficava, assim, elevado a 9 o numero de raças em que subdividi essa especie, sendo que as 8 primeiras, inclusive a typica, eu as havia assignalado (2) em 1925.

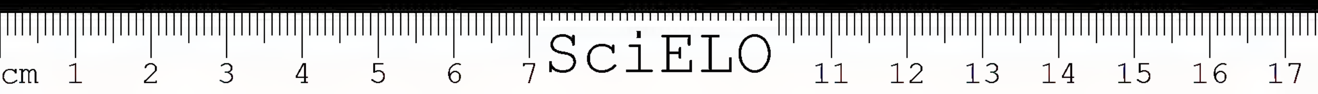
Desejo, agora, occupar-me de uma outra raça de *B. neuwiedii*, representada por varios exemplares que o Instituto Butantan tem ultimamente conseguido receber do extremo leste do Estado do Rio de Janeiro, na região proxima do Cabo São Thomé. Esses exemplares distinguem-se facilmente dos representantes das outras raças occorrentes no Brasil por seu systema de manchas bem caracteristico, tanto que, no momento de serem retirados vivos das caixas em que são remettidos, têm sido logo reconhecidos e trazidos para estudos no laboratorio.

### Bothrops neuwiedii fluminensis, subsp. n.

*Diagnose* — Os individuos desta subespecie caracterizam-se facilmente em vida pelo seu colorido de fundo pardo-chocolate, mais claro dos lados, com ocellos paravertebraes negros tarjados de branco e manchas transversaes alternadas ou oppostas (confluentes sobre a linha vertebral), sub-triangulares, castanho-negras tarjadas de branco; região paraventral com manchas negras sub-douradas; ventre bem manchado de castanho anegrado, manchas lateraes maiores, cabeça com diversas manchas negras tambem tarjadas de branco, sendo uma sub-redonda na região preorbitaria, duas longitudinaes na região occipital-nuchal (Fig. 1).

Nesta subespecie o dimorphismo sexual é representado pela seguinte formula baseada nos exemplares actualmente existentes:





♂ ♂ — E. dors. 22-25; V. 166-168; Sbc. 44-48.
♀ ♀ — E. dors. 25 ; V. 169-173; Sbc. 39-44,
conforme se verifica pela seguinte

Lista de exemplares de *B. neuwiedii fluminensis*, subsp. n.

| N.° | Procedencia | Sexo | Sp. L. | Dors. | V. | Sb. C. | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6154 . . . | Colomins, Rio | ♀ | 8/9 | 25 | 173 | 41 p. | |
| 6402 . . . | " " | ♀ | 8 | 25 | 169 | 39 p. | Fig. 1. *ex-vivo* |
| 7424 . . . | " " | ♂ | 8 | 23 | 166 | 46 p. | |
| 7602 . . . | " " | ♂ | 8 | 25 | 166 | 44 p. | |
| 7603 . . . | " " | ♂ | 8 | 23 | 168 | 46 p. | |
| 7604 . . . | " " | ♂ | 8 | 22 | 168 | 48 p. | |
| 7806 . . . | Barcellos, Rio | ♀ | 8 | 25 | 171 | 44 p. | Viva. *Typo* |

Como se vê, os exemplares procedem de Colomins e de Barcellos, a leste de Campos, Estado do Rio de Janeiro.

## ABSTRACT

A new race of *Bothrops neuwiedii* is described (*B. neuwiedii fluminensis*) as based on 7 specimens received from the eastermost section of the state of Rio de Janeiro, near the São Thomé Cape. This is the 10th race into which this species has thus far been divided.

---

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Amaral, A. do* — Bull. Antivenin Inst. America IV(3); 65-67. 1 fig. 1930.
2. *Amaral, A. do* — Harvard Inst. Trop. Biol. & Med. Contrib. II:56-62. Tabs. XIII — XVI. 1925.

(Trabalho da Secção de Ophiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, dezembro de 1932).

598.121:981

# CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DOS OPHIDIOS DO BRASIL

## VI. Uma nova especie de Colubrideo opisthoglypho, do genero *Chlorosoma* Wagler, 1830

POR

AFRANIO DO AMARAL

### INTRODUCÇÃO

Ha algum tempo, vinhamos notando, ao retirarmos, de seus respectivos caixotes, serpentes vivas recebidas do interior, que entre os exemplares até então classificados como *Chlorosoma schottii*, alguns havia cujo comportamento, physionomia e colorido nos faziam suspeitar se tratasse de alguma forma interessante.

Esse seu comportamento era sobremodo chocante, porque estavamos acostumados a lidar, em *C. schottii*, com exemplares bastante aggressivos e irritaveis, enquanto, no caso dos individuos ora assignalados, jamais perceberamos a menor aggressividade ou irritabilidade; pelo contrario, neste particular ethologico, os individuos referidos antes pareciam representantes do genero *Pseudoboa* Schneider, 1801.

Sua physionomia tornava-os igualmente distinguiveis de exemplares de *C. schottii*, principalmente por possuirem aquelles cabeça relativamente mais curta, mais larga e mais chata do que estes, alem de sua cauda parecer um tanto mais longa.

Seu colorido afinal pareceu-nos consistentemente mais escuro do que em *C. schottii*, em virtude da existencia de maior accumulo de melanina nas bordas das escamas.

Reunidos durante algum tempo varios exemplares dessa forma para comparação com exemplares typicos de *C. schottii*, pudemos, ao examinal-os agora, chegar á conclusão de se tratar de uma forma nova para a sciencia:

### **Chlorosoma arnaldoi**, sp. n.

*Diagnose* — Dentes maxillares 15+2, os 15 anteriores augmentando, apenas em comprimento, para trás e os 2 posteriores collocados alem da vertical da borda posterior da orbita; dentes mandibulares 21, subeguaes. Cabeça (Fig. 2-3) achatada, algo curta e larga; focinho arredondado, curto e largo; *canthus rostralis* arredondado. Rostral bem mais larga do que alta; pre-frontaes bastante curtas e largas; frontal curta e larga, apenas 1 $^1/_5$ — 1 $^1/_4$ vez tão longa quanto larga; frenal sempre mais longa do que alta; preocular 1; post-oculares 2 ou 3; temporaes 1+2 ou 1+1; occipitaes e post-temporaes sempre augmentadas; supra-labiaes 8 (4.ª e 5.ª contiguas á orbita); 5 (excepcionalmente 4) infra-labiaes contiguas ás mentaes anteriores que são tão longas quanto as posteriores. Escamas dorsaes em 19 filas, escamas com 1 fosseta apicilar. Ventraes 184-200; anal dividida; subcaudaes 105-136 pares. Formula:

$$♂♂\ \frac{\text{V.}\quad 184\text{-}194}{\text{Sbc.}\quad 105\text{-}136} \qquad ♀♀\ \frac{\text{V.}\quad 190\text{-}200}{\text{Sbc.}\quad 124\text{-}132}$$

*Coloração*: olivacea amarellada principalmente na parte posterior do corpo e na cauda; todas as escamas da cabeça, do dorso, do ventre e da cauda bem tarjadas de preto, apenas a garganta mais clara e sem tarjas.

*Hemipenis*: bem dividido, não capitado, calyculado, calyces antes arredondados, sulco bifido, margeado de cada lado, externamente, de 1 serie divergente de espinhos, porção sub-calycular da face ventral margeada de 4 espinhos maiores (Fig. 4, N.º 2).

Lista de exemplares de *Chlorosoma arnaldoi*, sp. n., na collecção do Instituto Butantan

| N.º | Procedencia | Sexo | Sp. L. | E. dors. | V. | SbC. | Comprimento em mm. total | Comprimento em mm. cauda | Notas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1784 | Franca, S. Paulo | ♀ | 8 | 19 | 192 | 124 p. | 973 | 435 | |
| 2735 | Dorizon, Paraná | ♂ | 8 | 19 | 186 | 136 p. | 608 | 314 | |
| 3511 | Loc. ign.. . . . | ♂ | 8 | 19 | 191 | 105 p. | 656 | 280 | |
| 4755 | Porto União, St.ª Catharina. . | ♀ | 8 | 19 | 200 | 132 p. | 1.010 | 468 | |
| 5997 | União da Victoria, Paraná . . | ♂ | 8 | 19 | 184 | 93 p+n | 619+n | 248+n | |
| 7021 | S. Bento, St.ª Catharina . . . | ♀ | 8 | 19 | 190 | 128 | 725 | 346 | |
| 7022 | S. Bento, St.ª Catharina . . . | ♂ | 8 | 19 | 194 | 118 | 910 | 390 | |
| 7807 | S. Bento, St.ª Catharina . . . | ♀ | 8 | 19 | 195 | 107 +n | 896+n | 359+n | Typo |

*Diagnose differencial* — Esta especie, que dedico a meu auxiliar technico, sr. Arnaldo França, é muito proxima de *C. schottii* (Schlegel, 1837), da qual se distingue pelos seguintes caracteres:

| | C. schottii | C. arnaldoi |
|---|---|---|
| Dentes maxillares . . . | 11+2, augmentando, em comprimento e grossura, para trás, posteriores sob a vertical do bordo trazeiro da orbita. | 15+2, augmentando, apenas em comprimento, para trás, posteriores além da vertical do bordo trazeiro da orbita. |
| " mandibulares. . | 15, augmentando até o meio e diminuindo para trás. | 21, subeguaes |
| Cabeça . . . . . . . . | elevada, alongada e estreita. | achatada, algo curta e larga. |
| Focinho . . . . . . . | estreitado, algo comprido e proeminente. | largo, curto e arredondado. |
| Canthus rostralis . . . | saliente e nitido. | arredondado e imperceptivel. |
| Frontal . . . . . . . . | 1 $^3/_4$—2 vezes tão longa quanto larga. | 1 $^1/_5$ — 1 $^1/_4$ tão longa quanto larga. |
| Prefrontaes . . . . . | relativamente longas. | antes curtas. |
| Occipitaes e post-temporaes. . . . . . . . | pequenas. | augmentadas |
| Cauda. . . . . . . . . | longa. | mais longa. |
| Escamas . . . . . . . | pouco tarjadas de negro. | muito tarjadas de negro. |
| Hemipenis. . . . . . . | globuloso, mal dividido, não capitado, com 5 - 6 espinhos no bordo da face ventral; calyces largos (Fig. 4, N.° 1). | antes alongado, bem dividido, com 4 espinhos no bordo da face ventral; calyces mais estreitos (Fig. 4, N.° 2). |


## ABSTRACT

A new species of *Chlorosoma* (*C. arnaldoi*) is described in the light of a comparative examination of 8 specimens, received from the south-eastern section of Brazil, with a large series of specimens of *C. schottii*, from which the former are easily distinguishable by their dentition, physiognomy, head shape and scutellation.


(Trabalho da Secção de Ophiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, terminado em dezembro de 1932).


SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



Fig. 1

Bothrops neuwiedii fluminensis, subsp. n.

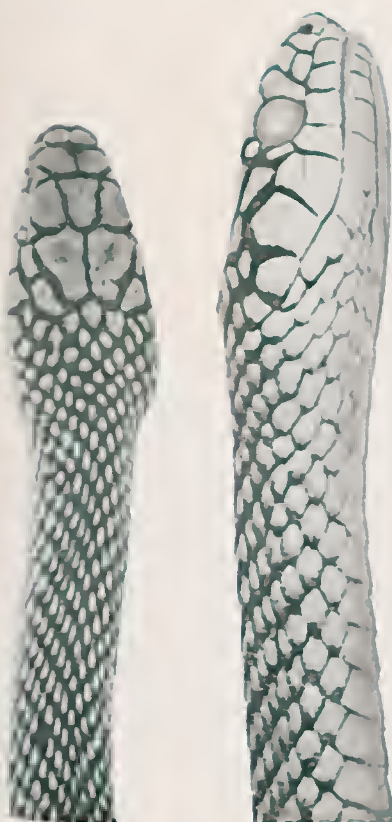


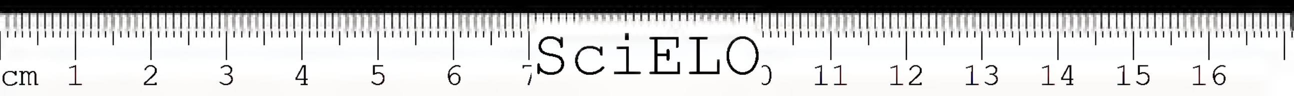
Fig. 2 Fig. 3

Chlorosoma arnaldoi, sp. n.




Fig. 4

N.° 1. Hemipenis de Chlorosoma schottii (SCHL.)
N.° 2. Hemipenis de Chlorosoma arnaldoi, sp. n.

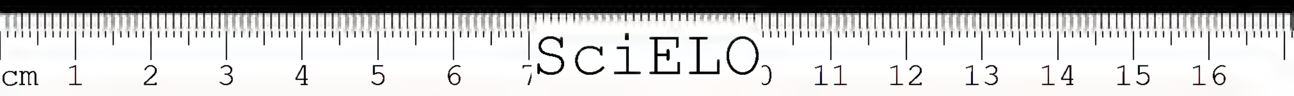

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

# ESTUDOS SOBRE OPHIDIOS NEOTROPICOS

POR

AFRANIO DO AMARAL

---


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

598.12:591.9:986

# ESTUDOS SOBRE OPHIDIOS NEOTROPICOS

## XXIX. Novas notas sobre especies da Colombia

POR

AFRANIO DO AMARAL

Em diversos trabalhos anteriores (1-7) eu me tenho occupado da fauna ophiologica da Colombia, mostrando as suas affinidades e a distribuição de suas especies constitutivas pelos diversos districtos dessa interessante e pouco conhecida secção da America do Sul. Por esses trabalhos se verifica a variedade das especies ali occorrentes e cujo numero já mostrei attingir actualmente a mais de 120. Essa variedade de formas representativas explica-se, sem duvida, pela grande diversidade de climas, topographia e accidentes geologicos caracteristicos do territorio colombiano.

Com effeito, a Colombia, apesar de se encontrar perto da linha equatorial, apresenta, neste particular, condições diversissimas. Percorrido longitudinalmente pelos Andes que, desde perto do extremo sul do pais, se trifurcam, formando cadeias de que a principal se dirige ligeiramente para o nordeste em demanda da fronteira da Venezuela, penetrando ali por um dos seus ramos e os dois outros, verdadeiros contrafortes, se collocam parallelamente para o occidente, o territorio colombiano offerece, porisso, alem desse triplo aspecto do districto andino, coberto de neve pelo menos em parte do anno, quatro outras secções predominantemente baixas, mais ou menos quentes e de elevado indice pluviometrico, a saber: a costa quente, coberta de florestas, adjacente ao Pacifico; os valles dos rios Cauca e Magdalena, que para o norte se fundem ao centro da enorme extensão de terras baixas, de clima equatorial, comprehendida entre Uraba e Santa Martha; finalmente, as terras orientaes, tambem quentes, cujas aguas são tributarias do Orenoco e do Amazonas e que, embora representem cerca de metade da area do pais, ainda se acham virtualmente inexploradas. Tendo-se em vista esta diversidade, não é de admirar que a ophio-fauna local seja tão rica e multiforme, nella predominando curiosamente as especies do genero *Atractus*, que parece ter ali, sinão sua origem, pelo menos seu centro de dispersão.

Todavia, ás especies até agora assignaladas se devem juntar mais algumas. cuja descripção consta do presente artigo, em que me occupo particularmente de mais duas collecções de ophidios colhidos ali e recebidos de meus distinctos correspondentes, Revº. Niceforo Maria, do Instituto de La Salle, de Bogotá, e Revº. Irmão Daniel, do Collegio Departamental de S. José, de Jericó. Os exemplares correspondentes a essas remessas acham-se no texto assignalados, respectivamente, pelas notações I. L. S. (Instituto de La Salle) e C. D. (Collegio Departamental), de sorte a se tornarem facilmente identificaveis.

E' de esperar, no entanto, que, apesar de já ser elevado, o numero de especies até o momento registadas para a Colombia venha a augmentar consideravelmente com o estudo de material mais abundante e de novas collecções mais intensivas. Tenho a impressão de que, assim, viremos algum dia a registar, não só muitas outras formas novas e interessantes, sinão tambem comprehender varios phenomenos relativos á distribuição geographica e relações reciprocas de elementos de diversos grupos, como especialmente os do genero *Atractus* Wagler, tão bem representado naquelle país.

As localidades em que foram colhidos os diversos exemplares ora registados são as seguintes:

Acacias (sul de Bogotá).
Cartagena (litoral do Mar das Antilhas).
Chita (sudeste de San Gil).
Chocó (perto de Quibdó, Quibdó).
Cúcuta (fronteira da Venezuela).
Espinal (sudoeste de Bogotá).
Florencia, intendencia do Caquetá.
Fusagasuga (sul de Bogotá).
Jericó, Antioquia (sudoeste de Medellin).
Medellin, Medellin.
Medina, Meta (leste de Bogotá).
Muzo, Tunja (norte de Bogotá).
Paime, Cundinamarca (norte de Bogotá).
Pensilvania (sul de Medellin).
Putumayo, intendencia do Amazonas.
Quibdó, Chocó.
Sampedro, Antioquia (norte de Medellin).
Sasaima (65 kms. ao noroeste de Bogotá).
Sonsón, Sonsón (sul de Medellin).
Sopetrán, Antioquia (norte de Medellin).
Villavicencio, Meta (leste de Bogotá).

A presente contribuição inclue, alem de muitas outras formas, 3 especies novas (*Atractus nigriventris*, *A. punctiventris* e *A. trivittatus*) e 1 genero (*Sibynophis*) e 6 especies ainda não assignaladas na Colombia (*Sibynophis venustissimus*, *Helicops angulata*, *H. leopardina*, *Atractus guentheri*, *Micrurus narduccii* e *M. surinamensis*).

### Helminthophis anops Cope

*H. anops* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:135.1929.

N.º 79 (I. L. S.), procedente de Paime.

Escamas 26. Olho invisivel. Prefrontaes separadas entre si pela rostral em contacto com a frontal. 3 supralabiaes.

Pardacenta, 16 series dorsaes de escamas com uma mancha negra ao centro: cabeça e ponta da cauda claras.

Comprimento total 280 mm.; cauda 3 mm..

### Helminthophis emunctus (Garman)

*H. emunctus* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:135.1929.

N.º 80 (I. L. S.), procedente de Cartagena.

Escamas 22. Supralabiaes 4. Prefrontal separada da 2.ª supralabial pela preocular inferior e nasal; rostral cerca de metade da largura da cabeça; ocular separada da 3.ª supralabial pela subocular.

Pardacenta; cabeça mais clara.

Comprimento total 270 mm.; cauda 5 mm..

### Leptotyphlops macrolepis (Peters)

*L. macrolepis* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:139.1929.

N.º 13 (C. D.), procedente de Jericó.

N.º 81 (I. L. S.), procedente de San Gil.

Supraocular pequena; 2.ª supralabial maior do que a 1.ª e mais baixa do que o nivel do olho.

### Sibynophis venustissimus (Guenther)

*Henicognathus venustissimus* Guenther — Biol. C. A. Americana. Rept.: 144. tab. LI: C. 1894.

*Sibynophis zeteki* Dunn — Occ. Pap. Boston Soc. Nat. History V: 329-330. 1930.

N.º 89 (I. L. S.) Adulto, ♀, procedente de Muzo.

Supralabiaes 9 (4.ª, 5.ª, 6.ª); infralabiaes 9/10; dorsaes 17; ventraes 149; anal 2; subcaudaes 103 pares.

Coloração mais ou menos typica: focinho pardo; cauda com aneis negros duplos intercallados de amarello.

Comprimento total 640 mm.; cauda 240 mm..

N.º 96 (I. L. S.). Adulto, ♂. procedente de Muzo.

Supralabiaes 8/9 (4.ª, 5.ª/4.ª, 5.ª, 6.ª); infralabiaes 8/9; dorsaes 17; ventraes 136; anal 2; subcaudaes 112 pares.

Coloração menos typica (ao centro do corpo, os aneis negros não se distinguem devido á putrefacção parcial): cauda com aneis negros duplos bem nitidos, intercallados de amarello.

Comprimento total 620 mm.; cauda 276 mm..

Genero e especie ainda não registados na Colombia.

*Nota*: Dunn descreveu, para o Panamá, a especie *S. zetcki*, que considerou diversa de *S. venustissimus* devido á presença naquella de focinho claro e de aneis dorsaes negros contiguos á coloração vermelha do fundo.

Examinando comparativamente a sua descripção com a de Guenther á luz da gravura por este publicada e em presença dos 2 exemplares que tenho em mão, não hesito em passar a especie *zetcki* para a synonymia de *venustissimus*. Com effeito, esses 2 exemplares recebidos da Colombia e indiscutivelmente pertencentes á especie *S. venustissimus*, apresentam varias modificações parciaes do colorido typico descripto por Guenther, seja no focinho e na região supralabial, seja na disposição dos aneis dorsaes, principalmente sobre a cauda, modificações que os approximam, do ponto de vista chromatico, do exemplar examinado por Dunn, o qual deve, portanto, ser considerado como mera variação de *S. venustissimus*. Nestas condições, parece-me opportuno, á luz dos 5 exemplares ora registados na literatura, apresentar a seguinte redescripção de *S. venustissimus* Guenther:

## Redescripção

Dentes maxillares — 43, subeguaes.

Rostral quasi 2 vezes tão larga quanto alta; internasaes e prefrontaes curtas, mais largas do que longas; frontal cerca de 1 ½ vez tão longa quanto larga e um pouco mais curta do que as parietaes; nasal dividida; frenal pequena, mais alta do que longa; preocular 1, attingindo a parte superior da cabeça; postoculares 2, contiguas á parietal; temporaes 2+2; supralabiaes 9 ou 8 (4.ª, 5.ª, 6.ª, ou 3.ª, 4.ª, 5.ª ou 4.ª, 5.ª apenas, contiguas á orbita); infralabiaes 8 a 10; mentaes anteriores mais longas e largas do que as posteriores e contiguas a 4 infralabiaes.

Escamas dorsaes 17; ventraes 136 (♀) a 149 (♂); anal dividida; subcaudaes 103 a 112 pares.

*Coloração*: focinho branco (Dunn) até pardacento claro (Amaral N.º 89) ou escuro (Guenther e Amaral N.º 96); supralabiaes manchadas de negro principalmente sob os olhos (N.º 89) ou sob os olhos até a ponta (N.º 96); corôa negra desde o nivel dos olhos até o occipicio; postoculares, temporaes e ultima supralabial mais ou menos manchadas de negro.

Colorido do dorso de "serpente coral" e variavel como em *Erythrolamprus aesculapii*, *Lampropeltis annulata*, *L. micropholis*, etc.: corpo vermelho coral com aneis dorsaes negros: a) simples, tarjados de branco, como em *Micrurus corallinus* excepto posteriormente e sob a cauda em que os aneis são geralmente duplos, conforme está indicado na propria gravura de Guenther, ou b) duplos intercalados de amarello mesmo sobre quasi toda a porção anterior do corpo. Face ventral clara, ás vezes com manchas negras lateraes e com uma pinta negra em cada placa subcaudal.

*Distribuição*: região neotropica, desde Nicaragua até Colombia.

## **Helicops angulata** (L.)

*H. angulata* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:148.1929.

N.º 92 (I. L. S.). Jovem, ♀, procedente de Sonsón.

Supralabiaes 8; dorsaes 19; ventraes 118; anal 2; caudaes 78 pares.
Comprimento total 195 mm.; cauda 56 mm..

N.º 100 (I. L. S.). Medio, ♂, procedente de Acacias.

Supralabiaes 8; dorsaes 19; ventraes 115; anal 2; caudaes 74 pares.
Comprimento total 295 mm.; cauda 90 mm..

N.º 101 (I. L. S.). Jovem, ♀, procedente de Acacias.

Supralabiaes 8; dorsaes 19; ventraes 115; anal 2; caudaes 58 pares.
Comprimento total 180 mm.; cauda 43 mm..
Especie ainda não registada na Colombia.

## **Helicops leopardina** (SCHLEGEL)

*H. leopardina* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:149.1929.

N.º 99 (I. L. S.). Jovem, ♀, procedente de Quibdó.

Supralabiaes 8 (4.ª); temporaes 1+3/1+2; dorsaes 19; ventraes 138; anal 2, subcaudaes 76 pares.

Ventre e face inferior da cauda com uma dupla serie de manchas semilunares negras e com 3 linhas claras: 1 mediana e 1 de cada lado.

Comprimento total 262 mm.; cauda 70 mm..

Especie ainda não registada na Colombia.

### **Helicops scalaris** JAN

*H. scalaris* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:149.1929.

N.º 88 (I. L. S.) Adulto, ♀, procedente de Cúcuta.

Supralabiaes 8 (4.ª); temporaes 1+4/1+3; dorsaes 21; ventraes 121; anal 2; caudaes 69 pares.

Ventre com 2 series longitudinaes de manchas cinzentas e 3 faixas amarelladas: 1 mediana e 1 de cada lado.

Comprimento total 615 mm.; cauda 165 mm..

### **Ninia atrata atrata** (HALLOWELL)

*N. atrata atrata* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:151.1929.

N.º 59 (I. L. S.) Jovem, ♂. procedente de Sasaima.

Supralabiaes 7 (4.ª); dorsaes 19; ventraes 149; anal 1; subcaudaes 59 pares. 1 pequena preocular (subocular) sob a frenal; 4 infralabiaes contiguas ás mentaes anteriores.

Escuro no dorso; claro no ventre; anel amarello na nuca.

Comprimento total 185 mm.; cauda 40 mm..

N.º 77 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Villavicencio.

Supralabiaes 7 (3.ª, 4.ª, 5.ª); dorsaes 19; ventraes 149; anal 1; subcaudaes 54 pares. 4 infralabiaes contiguas ás mentaes anteriores.

Pardo acinzentado no dorso; amarellado no ventre.

Comprimento total 351 mm.; cauda 71 mm..

### **Eudryas boddaertii** (SENTZEN)

*D. boddaertii* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:154.1929.

N.º 5 (C. D.) Jovem, ♀, procedente de Jericó.

Supralabiaes 9; dorsaes 17; ventraes 164; anal 2; subcaudaes 97 pares.

Comprimento total 336 mm.; cauda 82 mm..

N.º 16 (C. D.). Jovem, ♀, procedente de Jericó.

Supralabiaes 9; dorsaes 17; ventraes 178; anal 2; subcaudaes 97 pares.

Comprimento total 389 mm.; cauda 109 mm..

N.° 110 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Espinal.

Supralabiaes 9; dorsaes 17; ventraes 196; anal 2; caudaes 96 pares.

**Chironius fuscus** (L.)

*C. fuscus* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:161.1929.

N.° 66 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Villavicencio.

Supralabiaes 9; dorsaes 10; ventraes 156; anal 1; subcaudaes 115 pares.

Comprimento total 1886 mm.; cauda 588 mm..

**Leimadophis reginae** (L.)

*L. reginae* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:167.1929.

N.° 75 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Medina.

Supralabiaes 8; dorsaes 17; ventraes 142; anal 2; subcaudaes 72 pares.
Comprimento total 585 mm.; cauda 155 mm..

**Lygophis taeniurus bipraeocularis** (Blgr.)

*L. taeniurus bipraeocularis* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:170.1929.

N.° 63 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Paime.

Supralabiaes 8; preoculares 2; dorsaes 17; ventraes 136; anal 2; subcaudaes 57 pares.

Ventre claro como em *L. t. albiventris*.

*Nota*: Este exemplar parece hybrido de *bipraecularis* e *albiventris*, conforme assignalei *in* Mem. Inst. Butantan IV:21.1929.

Comprimento total 485 mm.; cauda 117 mm..

**Liophis cobella alticolus** Amaral

*L. cobella alticolus* Amaral — Bull. Antiv. Inst. America IV (4):87.1931.

N.° 94 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Medellin.

Supralabiaes 8; dorsaes 17; ventraes 147; anal 2; subcaudaes 50 pares.

Coloração typica.

Comprimento total 490 mm.; cauda 97 mm..

9



N.° 2 (C. D.). Adulto, ♂, procedente de Jericó.

Supralabiaes 8; dorsaes 17; ventraes 144; anal 2; subcaudaes 48 pares.

Coloração typica, mas aneis obscurecidos.

Comprimento total 515 mm.; cauda 110 mm..

N.° 9 (C. D.). Jovem, ♀, procedente de Jericó.

Supralabiaes 8; dorsaes 17; ventraes 145; anal 2; subcaudaes 55 pares.

Coloração typica.

Comprimento total 187 mm.; cauda 38 mm..

N.° 10 (C. D.). Jovem, ♀, procedente de Jericó.

Supralabiaes 8; dorsaes 17; ventraes 147; anal 2; subcaudaes 46 pares.

Coloração typica.

Comprimento total 175 mm.; cauda 32 mm..

### Urotheca elapoides euryzona (Cope)

*U. elapoides euryzona* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:177.1929.

N.° 58 (I. L. S.). Jovem, ♀, procedente de Pensilvania.

Supralabiaes 8; dorsaes 17; ventraes 140 (?); and 1; subcaudaes 104 pares.

Coloração typica. Ventre estragado.

Comprimento total 261 mm.; cauda 89 mm..

### Urotheca lateristriga (Berthold)

*U. lateristriga* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:178.1929.

N.° 78 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Muzo.

Supralabiaes 8; dorsaes 17; ventraes 159; anal 2; subcaudaes 85 pares.
Comprimento total 480 mm.; cauda 157 mm..

### Lampropeltis micropholis Cope

*L. micropholis* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:180.1929.

N.° 64 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Jericó.

Supralabiaes 7; dorsaes 21; ventraes 224; anal 1; subcaudaes 43 pares + n.

Comprimento total 1055 mm.; cauda 145 mm..

N.º 67 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Florencia.

Supralabiaes 7; dorsaes 21; ventraes 227; anal 1; subcaudaes 49 pares.

Comprimento total 803 mm.; cauda 107 mm..

N.º 97 (I. L. S.). Jovem, ♂, procedente de Pensilvania.

Supralabiaes 7; dorsaes 21; ventraes 218; anal 1; subcaudaes 51 pares.

Comprimento total 322 mm.; cauda 48 mm..

N.º 113 (I. L. S.). Jovem, [illegible], procedente de Paime.

Supralabiaes 7; dorsaes 21; ventraes 217; anal 1; subcaudaes 44 pares.

Comprimento total 360 mm.; cauda 45 mm..

## Atractus badius (Boie)

*A. badius* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:185.1929.

N.º 83 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Chita.

Labiaes 7; dorsaes 17; ventraes 150; anal 1; subcaudaes 31 pares; 3 infralabiaes contiguas ao par de mentaes.

Dorso castanho com pequenas manchas negras. Lados da nuca, labios e garganta mais claros; ventre claro bem manchado de negro aos lados.

Comprimento total 291 mm.; cauda 35 mm..

N.º 83 A (I. L. S.). Jovem, ♂, procedente de Chita.

Labiaes 7; dorsaes 17; ventraes 146; anal 1; subcaudaes 25 pares; 4/5 infralabiaes contiguas ao par de mentaes.

Dorso castanho com manchinhas escuras; mancha nucho-temporal clara; labios, garganta e ventre claros salpicados de escuro.

Comprimento total 140 mm.; cauda 15 mm..

## Atractus elaps tetrazonus Amaral

*A. elaps tetrazonus* Amaral — Bull. Antiv. Inst. America IV(4):87.1931.

N.º 68 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de?

Labiaes 6; dorsaes 15; ventraes 142; anal 1; subcaudaes 30 pares.

Coloração typica.

Comprimento total 337 mm.; cauda 45 mm..

### Atractus guentheri (Wucherer)

*A. guentheri* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:186.1929.

N.° 6 (C. D.). Adulto, ♂, procedente de Jericó.

Labiaes 8/7 (4.ª, 5.ª/3.ª, 4.ª); 4 infralabiaes contiguas ás mentaes que são granulosas (♂). Dorsaes 17; ventraes 161; anal 1; caudaes 27 pares.

Pardo com 2 series de manchas pequenas transversaes negras tarjadas de claro, oppostas ou alternadas com as do outro lado; ventre manchado de negro principalmente aos lados.

Comprimento total 280 mm.; cauda 37 mm..

N.° 107 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Jericó.

Labiaes 8/7 (4.ª, 5.ª/3.ª, 4.ª); dorsaes 17; ventraes 161; anal 1; subcaudaes 18 pares; 4 infralabiaes contiguas ao par de mentaes.

Pardo com 2 series de pequenas manchas transversaes negras tarjadas de claro oppostas ou alternadas com as do outro lado; ventre manchado de negro especialmente aos lados.

Comprimento total 330 mm.; cauda 28 mm..

Especie ainda não registada na Colombia.

### Atractus lasallei Amaral

*A. lasallei* Amaral — Bull. Antiv. Inst. America IV(4):87.1931.

N.° 15 (C. D.). Adulto, ♂. procedente de Jericó.

Labiaes 7; dorsaes 17; ventraes 166; anal 1; subcaudaes 22 pares.

Dorso anegrado. Labios e garganta claros; face ventral negra, bem manchada de amarello aos lados e centro e principalmente sob a cauda.

Comprimento total 425 mm.; cauda 43 mm..

### Atractus loveridgei Amaral

*A. loveridgei* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:187.1929.

N.° 4 (C. D.). Adulto, ♀, procedente de Jericó.

Labiaes 7; dorsaes 17; ventraes 174; anal 1; caudaes 15 pares.

Castanho-anegrada com manchas irregulares e indicios de estria negra de cada lado sobre a 4.ª e 5.ª filas; ventre negro, manchado de amarello ao meio e de cada lado.

Comprimento total 508 mm.; cauda 37 mm..

N.° 104 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Jericó.

Labiaes 7; dorsaes 17; ventraes 171; anal 1; subcaudaes 17 pares.

Coloração como em N.° 11 A, garganta e ventre um pouco mais manchados de amarello.

Comprimento total 275 mm.; cauda 19 mm..

N.° 3 (C. D.). Medio, ♂, procedente de ?

Labiaes 7; dorsaes 17; ventraes 157; anal 1; subcaudaes 25 pares.

Dorso castanho, com 1 linha negra fina sobre a 2.ª fila; estria sobre a 4.ª e 5.ª filas e sobre a 7.ª e 8.ª; temporas, labios e garganta claros; ventre claro com manchas negras nos lados e no centro, mais claro nos lados.

Comprimento total 312 mm.; cauda 36 mm..

N.° 11 (C. D.). Jovem, ♀, procedente de Jericó.

Labiaes 8/7 (4.ª, 5.ª/3.ª, 4.ª); dorsaes 17; ventraes 162; anal 1; subcaudaes 19 pares.

Castanho com 1 linha sobre a 2.ª fila; estria sobre a 4.ª e 5.ª e sobre a 7.ª e 8.ª filas; temporas claras, ventre claro no centro e limite externo com manchas pardas do lado.

Comprimento total 150 mm.; cauda 8 mm..

N.° 11 A (C. D.). Adulto, ♀, procedente de Sampedro.

Labiaes 7; dorsaes 17; ventraes 170; anal 1; subcaudaes 15 pares.

Coloração como em N.° 4 (C. D.), ventre quasi inteiramente negro, apenas mais amarello sob a cauda.

Comprimento total 384 mm.; cauda 25 mm..

### **Atractus nicefori** Amaral

*A. nicefori* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:188.1929.

N.° 105 (I. L. S.). Jovem, ♀, procedente de Jericó.

Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 152; anal 1; subcaudaes 20 pares.

Dorso pardo com faixas escuras transversaes pouco perceptiveis; ventre castanho profusamente manchado de claro.

Os caracteres anatomicos parecem corresponder aos do adulto, embora seja bem diverso o colorido. Só serie maior resolverá esta duvida.

Comprimento total 155 mm.; cauda 13 mm..

## Atractus nigriventris, sp. n.

N.º 82 (I. L. S.). Adulto. ♀. procedente de Chita.

*Descripção* — Focinho saliente. Cabeça estreita e alongada. Cauda cylindrica e relativamente alongada. Rostral pequena, pouco mais larga do que alta; internasaes pequenas; prefrontaes um pouco mais largas do que longas; frontal 1 vez e ¼ mais larga do que longa e muito mais curta do que as parietaes; nasal semi-dividida; frenal 2 vezes e ½ tão longa quanto alta, separada da orbita pela 3.ª supralabial contigua á prefrontal de cada lado; postoculares 2, ambas em contacto com a temporal anterior; temporaes 1 + 2; supralabiaes 7 (3.ª e 4.ª contiguas á orbita); 3 pares de infralabiaes contiguos ao unico par de mentaes, separado da symphysal pelo primeiro par infralabial. Escamas dorsaes em 17 filas. Ventraes 175. Anal inteira. Subcaudaes 26 pares.

*Coloração* — Dorso castanho-acinzentado, com a base das escamas manchada de negro; labios e garganta claros manchados de cinzento escuro, a cor clara estendendo-se para trás ao longo do ventre sob a forma de uma estria de cada lado, margeando as ventraes que são inteiramente cinzento-anegradas em todo o resto de sua extensão.

*Typo* — no Instituto Butantan.

*Dimensões* — Comprimento total 365 mm.; cauda 35 mm..

*Nota* — Esta especie parece proxima de *A. bocourti* Blgr., da qual se distingue pela conformação da frenal, curteza das mentaes e pela coloração.

## Atractus obtusirostris Werner

*A. obtusirostris* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:188.1929.

N.º 60 (I. L. S.). Jovem, ♀, procedente de Pensilvania.

Labiaes 7 (3.ª, 4.ª); 4 infralabiaes contiguas ao par de mentaes; dorsaes 17; ventraes 159; anal 1; subcaudaes 19 pares.

Dorso castanho com 1 serie paravertebral de manchas escuras sobre a 7.ª fila e 1 estria escura sobre a 3.ª fila de cada lado (paraventral). Ventre escuro levemente salpicado de amarello e com 1 estria clara lateral (marginal á 1.ª fila dorsal).

Comprimento total 235 mm.; cauda 20 mm..

N.º 70 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Pensilvania.

Supralabiaes 8; 4 infralabiaes em contacto com o par de mentaes; dorsaes 17; ventraes 160; anal 1; subcaudaes 17 pares.

Pardo claro no dorso, com 1 estria negra sobre a 3.ª fila e manchas negras occupando 1 escama sobre a 7.ª fila, formando 1 serie intercisa de cada lado, da linha vertebral: ventre quasi todo negro, com algumas manchas amarellas e limitado de cada lado por 1 estria amarellada, marginal á 1.ª fila dorsal; mancha temporal obliqua amarella tarjada de negro presente de cada lado.

Comprimento total 540 mm.; cauda 37 mm..

### **Atractus oculotemporalis** Amaral

*A. oculotemporalis* Amaral — Bull. Antiv. Inst. America V(3):67.1932.

N.° 8 (C. D.). Adulto, ♂, procedente de Jericó.

Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 142; anal 1; subcaudaes 28 pares; 4 infralabiaes contiguas ao par de mentaes.

Coloração typica.

Comprimento total 314 mm.; cauda 36 mm..

N.° 85 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Jericó.

Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 147; anal 1; subcaudaes 31 pares; 3/4 infralabiaes contiguas ao par de mentaes.

Coloração typica.

Comprimento total 315 mm.; cauda 37 mm..

N.° 85 A (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Jericó.

Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 145; anal 1; subcaudaes 23 pares; 4 infralabiaes contiguas ao par de mentaes.

Dorso escuro cinza com manchas imperceptiveis.

Comprimento total 230 mm.; cauda 21 mm..

N.° 108 (I. L. S.). Medio, ♂, procedente de Jericó.

Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 142; anal 1; subcaudaes 31 pares.

Coloração typica.

Comprimento total 205 mm.; cauda 24 mm..

N.° 106 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Jericó.

Labiaes 8 (4.ª, 5.ª); dorsaes 15; ventraes 147; anal 1; subcaudaes 27 pares; 4/5 infralabiaes contiguas ao par de mentaes.

Coloração typica.

Comprimento total 355 mm.; cauda 40 mm..

### **Atractus punctiventris,** sp. n.

N.° 102 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Villavicencio.

*Descripção* — Focinho arredondado. Cabeça algo alargada. Cauda cylindrica e longa. Rostral pequena, mais larga do que alta; internasaes pequenas;

prefrontaes tão largas quanto longas; frontal tão longa quanto larga, mais curta do que as parietaes; nasal semi-dividida; frenal 3 vezes tão longa quanto alta; postoculares 2, ambas em contacto com a temporal anterior; temporaes 1 + 2, a supero-posterior muito longa; supralabiaes 7 (3.ª e 4.ª contiguas á orbita); 3 pares de infralabiaes contiguas ao unico par de mentaes separado da symphysal pelo 1.º par infralabial. Escamas dorsaes em 15 filas. Ventraes 158. Anal inteira. Subcaudaes 33 pares.

*Coloração* — Dorso castanho-claro levemente manchado de negro sobre o bordo das escamas e com uma serie paravertebral de manchas negras tarjadas de claro, irregularmente dispostas e ás vezes fundidas com as do lado opposto: cabeça manchada de negro, labios e garganta esbranquiçados, superficie ventral tambem esbranquiçada com uma estria negra mediana constituida por uma mancha arredondada collocada bem sobre o centro de cada placa ventral das subcaudaes.

*Typo* — no Instituto Butantan.

*Dimensões* — Comprimento total 325 mm.; cauda 43 mm..

*Nota* — Esta especie parece proxima de *A. recticulatus* (Blgr.), da qual se distingue pelo comprimento da frenal, pela curteza das mentaes e pela coloração.

**Atractus trivittatus**, sp. n.

N.º 84 (I. L. S.). Medio, ♂. procedente de Chita.

*Descripção* — Focinho arredondado. Cabeça algo alargada. Rostral diminuta, tão larga quanto alta; internasaes pequenas; prefrontaes um pouco mais longas do que largas; frontal tão larga quanto longa, mais curta do que as parietaes; nasal subdividida; frenal 2 vezes e ½ tão longa quanto alta, postoculares 2, ambas em contacto com a temporal anterior; 8 supralabiaes (4.ª e 5.ª contiguas á orbita); 4 infralabiaes contiguas ao unico par de mentaes, separado pela symphysal pelo 1.º par infralabial. Escamas dorsaes em 17 filas. Ventraes 176. Anal inteira. Subcaudaes 33 pares.

*Coloração* — Dorso castanho profundamente salpicado e manchado de negro; cabeça negra menos nos labios e na garganta que são brancos embora bem manchados de negro; superficie ventral branca com innumeras manchas pardo-anegradas formando 3 estrias longitudinaes.

*Typo* — no Instituto Butantan.

*Dimensões* — Comprimento total 180 mm.; cauda 18 mm..

*Nota* — Esta especie parece proxima de *A. major* Blgr., da qual se distingue facilmente pelo numero de supralabiaes, extensão da frenal e pela coloração bastante conspicua.

### Sibon sibon (L.)

*S. sibon* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:194.1929.

N.° 61 (I. L. S.). Medio, ♂, procedente de Sasaima.
Labiaes 7 (4.ª, 5.ª); dorsaes 15; ventraes 169; anal 1; caudaes 89 pares.
Comprimento total 330 mm.; cauda 82 mm..

N.° 69 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de ?
Supralabiaes 7; dorsaes 15; ventraes 187; anal 1; subcaudaes 90 pares.
Comprimento total 765 mm.; cauda 205 mm..

N.° 91 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Medellin.
Labiaes 7 (4.ª, 5.ª); dorsaes 15; ventraes 177; anal 1; caudaes 89 pares.
Comprimento total 574 mm.; cauda 148 mm..

N.° 111 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Quibdó.
Supralabiaes 7; dorsaes 15; ventraes 179; anal 1; subcaudaes 98 pares.
Comprimento total 600 mm.; cauda 150 mm..

N.° 112 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Paime.
Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 184; anal 1; caudaes 87 pares.
Comprimento total 545 mm.; cauda 133 mm..

### Sibynomorphus catesbyei (Sentzen)

*S. catesbyei* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:196.1929.

N.° 95 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de ?
Labiaes 9/8 (5.ª, 6.ª/4.ª, 5.ª). Preoculares 2/2; dorsaes 13; ventraes 179; anal 1; caudaes 95 pares.
Comprimento total 320 mm.; cauda 85 mm..

### Sibynomorphus sancti-joannis (Blgr.)

*L. sancti-joannis* Boulenger — Ann. & Mag. Nat. History (8)VII:24.1911.

Em trabalho anterior (8) eu havia reunido esta forma e varias outras á especie *S. mikanii* (Schlegel) que desdobrei em 4 raças. Nesse trabalho tambem considerei a forma *L. sancti-joannis* Blgr. como synonyma de *S. mikanii peruanus* (Boettger). Essa fusão foi-me dictada pela impossibilidade de encontrar differenças muito nitidas entre os exemplares typos por mim examinados, aliás geralmente em mau estado de conservação.

Todavia, em artigo mais recente (7, p. 67), achei prudente revalidar a especie *S. sancti-joannis* (Blgr.), por lhe ter examinado um perfeito exemplar,

obtido em Pensilvania, Colombia, pelo Irmão Niceforo Maria. Cabe-me, agora, confirmar essa revalidação á luz do presente especime, tambem em boas condições de conservação e cujos caracteres coincidem com a descripção dada por Boulenger para a sua especie.

Feita esta separação, torna-se necessaria uma revisão das seguintes especies affins de *S. mikanii*, no intuito de se verificar a sua respectiva validez: *S. boettgeri* (Werner, 1901), *S. schunkii* (Blgr., 1908), *S. boliviana* (Werner, 1909) e *S. latifasciatus* (Blgr., 1913).

N.º 62 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Pensilvania.

Labiaes 9 (4.ª, 5.ª, 6.ª); preoculares 2; temporaes 2+2/2+3; mentaes 3 pares. Dorsaes 15, serie vertebral fortemente augmentada; ventraes 200; anal 1; caudaes 89 pares.

Comprimento total 906 mm.; cauda 206 mm..

## **Leptodeira annulata annulata** (L.)

*L. annulata annulata* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:204.1929.

N.º 7 (C. D.). Adulto, ♀, procedente de Jericó.

Labiaes 8; subocular 1; dorsaes 21; ventraes 193; anal 2; caudaes 89 pares.

Comprimento total 482 mm.; cauda 121 mm..

## **Pseudoboa cloelia** (Daudin)

*P. cloelia* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:205.1929.

N.º 65 (I. L. S.). Jovem, ♀, procedente de Villavicencio.

Labiaes 7/8 (3.ª, 4.ª/4.ª, 5.ª); temporaes 2+3; dorsaes 19; ventraes 233; anal 1; caudaes 83 pares.

Roseo-pardo no dorso; nuca amarellada com mancha negra posterior; focinho negro; ventre claro.

Comprimento total 455 mm.; cauda 86 mm..

## **Pseudoboa petola** (L.)

*P. petola* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:207.1929.

N.º 76 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Villavicencio.

Labiaes 8; dorsaes 19; ventraes 210; anal 1; caudaes 55 pares + n.

Dorso pardo anegrado com vestigios de aneis.

Comprimento total 928 mm.; cauda 160 mm..

## Dryophylax pallidus pallidus (L.)

*D. pallidus pallidus* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:210.1929.

N.º 93 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de ?

Labiaes 8; dorsaes 17; ventraes 148; anal 1; caudaes 78 pares.

Coloração typica.

Comprimento total 325 mm.; cauda 83 mm..

## Tantilla melanocephala (L.)

*T. melanocephala* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:221.1929.

N.º 12 (C. D.). Adulto, ♂, procedente de Jericó.

Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 149; anal 2; caudaes 61 pares.

Dorso castanho com 5 linhas negras longitudinaes; manchas amarellas. Supralabiaes presentes, inclusive a grande posterior.

Comprimento total 413 mm.; cauda 100 mm..

## Stenorhina degenhardtii (BERTHOLD)

*S. degenhardtii* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:223.1929.

N.º 98 (I. L. S.). Jovem, ♂, procedente de Quibdó.

Labiaes 7; temporaes 1 + 2; frenal fundida com a nasal; dorsaes 17; ventraes 147; anal 2; caudaes 49 pares.

Comprimento total 230 mm.; cauda 43 mm..

N.º 103 (I. L. S.). Jovem, ♂, procedente de Muzo.

Labiaes 7; temporaes 1 + 2; frenal fundida com a nasal; dorsaes 17; ventraes 141; anal 2; caudaes 43 pares.

Comprimento total 205 mm.; cauda 35 mm..

N.º 109 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Muzo.

Labiaes 7; temporaes 1 + 2; frenal fundida com a nasal; dorsaes 17; ventraes 143; anal 2; caudaes 42 pares.

Comprimento total 515 mm.; cauda 113 mm..

N.º 114 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Sasaima.

Labiaes 6 (1.ª fundida com a rostral, 2.ª, 3.ª + orbita); temporaes 1+2; frenal fundida com a nasal e com a preocular á direita e só com a nasal á esquerda; preocular fundida com a 2.ª labial á esquerda. Postocular fundida com a temporal anterior; dorsaes 17; ventraes 159; anal 2; caudaes 34 pares.

Comprimento total 465 mm.; cauda 70 mm..

### Micrurus corallinus dumerilii (Jan)

*M. corallinus dumerilii* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:228.1929.

N.º 73 (I. L. S.). Adulto, ♀. procedente de Muzo.
Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 213; anal 2; caudaes 39 pares.
Corpo com 27 aneis negros; cauda com 6 aneis negros.
Comprimento total 637 mm.; cauda 71 mm..

N.º 90 (I. L. S.). Adulto, ♂. procedente de Fusagasuga.
Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 187; anal 2; caudaes 48 pares.
Corpo com 19 aneis negros; cauda com 8 aneis negros.
Comprimento total 485 mm.; cauda 79 mm..

### Micrurus mipartitus (D. & B.)

*M. mipartitus* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:231.1929.

N.º 1 (C. D.). Adulto, ♀, procedente de Jericó.
Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 295; anal 2; caudaes 26 pares.
65 aneis vermelhos no corpo e 6 na cauda.
Comprimento total 862 mm.; cauda 45 mm..

### Micrurus narduccii (Jan)

*M. narduccii* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:231.1929.

N.º 72 (I. L. S.). Adulto, ♀, procedente de Putumayo.
Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 259; anal 2; caudaes 16 pares.
Colorido negro; ventre com 32 manchas amarelladas.
Comprimento total 400 mm.; cauda 17 mm..
Especie ainda não registada na Colombia.

### Micrurus surinamensis (Cuvier)

*M. surinamensis* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:232.1929.

N.º 74 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Villavicencio.
Labiaes 7; dorsaes 15; ventraes 169; anal 2; caudaes 33 pares.
7 triadas de aneis negros no corpo e 1 na cauda.
Comprimento total 890 mm.; cauda 100 mm..
Especie ainda não registada na Colombia.

### Bothrops atrox (L.)

*B. atrox* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:234.1929.

N.º 86 (I. L. S.). Jovem, ♀, procedente de Florencia.
Labiaes 7; dorsaes 25; ventraes 199; anal 1; caudaes 66 pares.
Comprimento total 475 mm.; cauda 66 mm..

N.º 87 (I. L. S.). Adulto, ♂, procedente de Chocó.
Labiaes 7; dorsaes 29; ventraes 196; anal 1; caudaes 68 pares + n.
Comprimento total 1300 mm. + n.; cauda 175 mm. + n.
*Nota:* N.º 87 A — Embryão.

### Bothrops schlegelii (BERTHOLD)

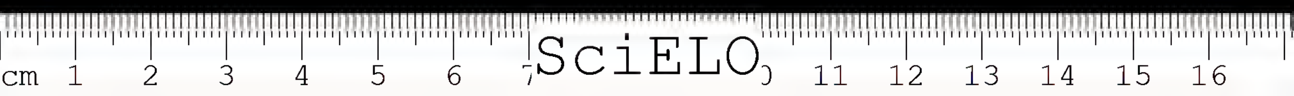
*B. schlegelii* Amaral — Mem. Inst. Butantan IV:240.1929.

N.º 14 (C. D.). Adulto, ♂, procedente de Sampedro.
Labiaes 9/8; dorsaes 21; ventraes 141; anal 1; caudaes 52 inteiras.
Comprimento total 357 mm.; cauda 60 mm..

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Amaral, A. do* — Studies of Neotropical Ophidia. VII. An interesting collection of snakes from West Colombia. *in* Bull. Antiv. Inst. America I(2):44-47.1927.
2. *Amaral, A. do* — Studies of Neotropical Ophidia. X. Further notes on an interesting collection of snakes from West Colombia. *in* Bull. Antiv. Inst. America II(1):6.1928.
3. *Amaral, A. do* — Studies of Neotropical Ophidia. XI. Snakes from the Santa Marta region, Colombia. *in* Bull. Antiv. Inst. America II(1):7-8.1928.
4. *Amaral, A. do* — Studies of Neotropical Ophidia. XVI. Two new snakes from Central Colombia. *in* Bull. Antiv. Inst. America IV(2):27-28. 1930.
5. *Amaral, A. do* — Studies of Neotropical Ophidia. XXIII. Additional notes on Colombian snakes. *in* Bull. Antiv. Inst. America IV(4):85-89.1931.
6. *Amaral, A. do* — Studies of Neotropical Ophidia. XXVI. Ophidia of Colombia. *in* Bull. Antiv. Inst. America IV(4):89-94.1931.
7. *Amaral, A. do* — Studies of Neotropical Ophidia. XXVII. On two small collection of snakes from Central Colombia. *in* Bull. Antiv. Inst. America V(3):66-68.1932.
8. *Amaral, A. do* — Estudos sobre ophidios neotropicos. XVII. Valor systematico de varias formas de ophidios neotropicos. *in* Mem. Inst. Butantan IV:30-31.1929.

(Trabalho da Secção de Ophiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, terminado em dezembro de 1932).

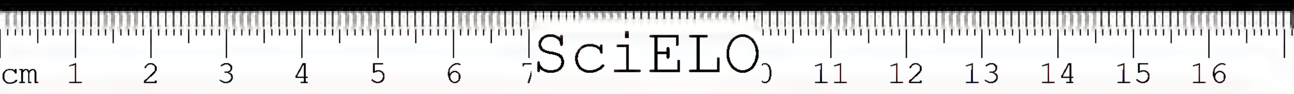

SciELO

# NOTAS DE ACAREOLOGIA

POR

FLAVIO DA FONSECA

(*com 6 gravuras no texto*)


SciELO

616.958.5

# NOTAS DE ACAREOLOGIA

## I. Papel dos acarianos do genero *Trombicula* na transmissão das Rickettsias pathogenicas e applicação dessa hypothese á *Rickettsia brasiliensis* Monteiro, 1931.

POR

FLAVIO DA FONSECA

Em nosso programma de trabalho incluimos, em meiados de 1931, o estudo de certos aspectos da modalidade paulista da febre exanthematica, dirigindo sobretudo novos esforços para o problema da transmissão da *Rickettsia brasiliensis*, tendo sobre tal assumpto publicado algumas notas em collaboração com J. Lemos Monteiro e Alcides Prado, deste Instituto.

No decurso desses trabalhos fomos insensivelmente levados a aprofundar o estudo da fauna indigena dos acarianos parasitas, até hoje relegado para plano secundario, excepto no que diz respeito ás especies das Fam. *Ixodidae* e *Argosidae*, exhaustivamente tratados, em seu aspecto systematico, por Beaurepaire Aragão e Carlos Rohr.

Entre os *Acarina* de importancia em nosologia, avultam, além dos *Ixodidae*, os da Fam. *Trombidiidae*, de que apenas existem raras especies descriptas para o Brasil. A relevancia do papel que representam na transmissão das rickettsias, o que procuraremos aqui salientar, determinou que, encarado este problema, emprehendessemos o estudo systematico das especies do genero *Trombicula* encontradas nesta região. Com effeito, entre os vectores provados das varias modalidades de rickettsioses cujo mechanismo da transmissão já é conhecido, sobresahem, ao lado dos Pediculideos e Syphonapteros, os arachnideos da ordem *Acarina*, para a qual se voltou a attenção geral após os trabalhos realizados sobre a transmissão da Febre das Montanhas Rochosas (que hoje se sabe com segurança ser uma rickettsiose) pelos *Ixodidae* dos generos *Dermacentor* e *Haemaphysalis*.

Após longo intervallo, Cowdry, em 1925, verifica a transmissão da *heartwater*, devida á *Rickettsia ruminantium* Cowdry, pelo *Amblyomma hebraeum* (I e

2), com isto demonstrando a importancia dos ixodidas na vehiculação de infecção deste grupo.

Novo lapso transcorrido e eis que, em 1931 se demonstra na Europa que o transmissor da Febre Botonosa é tambem um Ixodideo, o *Rhipicephalus sanguineus.*

Além da transmissão experimental da Febre das Montanhas Rochosas por outras especies afóra as já conhecidas e da mesma verificação de possibilidade de transmissão do typho endemico norte-americano por especies dos generos *Dermacentor* e *Amblyomma* (4), ficou patente ultimamente, por estudos realizados neste Instituto, que a *Rickettsia* do typhus paulista é de facil transmissão experimental pelo *Amblyomma cajennense,* sendo, além disso, possivel a infecção experimental de *Boophilus microplus* e *Ornithodoros rostratus* (5, 6).

Não são, porém, os acarianos da Fam. *Ixodidae* os unicos representantes da ordem *Acarina* que representam papel relevante na transmissão das rickettsioses. Trabalhos recentes de Dove e Shelmire (7) accusam um representante da Fam. *Dermanyssidae,* o *Liponissus bacoti,* de transmittir o typhus endemico norte-americano, sendo portanto esta mais uma familia de acarianos para a qual se devem voltar as vistas dos interessados em estudos de transmissão de rickettsias.

Bem mais importante do que estes, são entretanto, os *Acarina* da Fam. *Trombidiidae,* sub-familia *Trombiculinae,* genero *Trombicula.* Com effeito, a observação meticulosa da epidemiologia do *tsutsugamushi* japonês demonstrou, pela eliminação successiva de outros arthrópodos e pelo accumulo de provas em favor desta hypothese (inclusive a transmissão a macacos sensiveis por larvas creadas em laboratorio), que a febre fluvial do Japão, hoje reconhecida como modalidade de febre exanthematica, tendo como agente um microorganismo do genero *Rickettsia,* é transmittida por uma especie de *Trombidiidae,* a *Trombicula akamushi* (Brumpt, 1910). Esta larva, segundo o demonstraram Miyajima e Okimura (8), não só dissemina a infecção entre certos roedores, particularmente *Microtus montebelloi,* que se tornam outros tantos reservatorios naturaes do virus, como tambem, completando o cyclo infectuoso, transmitte ao homem as rickettsias, quer as tenham adquirido hereditariamente, como parece mais provavel, quer directamente de um roedor infectado, embora este ultimo caso não pareça constituir a regra e sim mero facto esporadico, dado o habito de conservar-se o acariano fixado ao mesmo hospedeiro durante toda a phase larvar, unica phase do seu cyclo evolutivo em que é parasita.

Segundo verificou Hatori (9) seria ainda a mesma especie, *Trombicula akamushi* a que, em Formosa, transmitte o *tsutsugamushi,* indo provavelmente infectar-se sobre roedores dos generos *Apodemus, Pachyura, Rattus,* etc.. Não só, porém, a rickettsiose japonesa, incluida a de Formosa, tem a sua transmissão assegurada por uma *Trombicula;* o pseudotyphus de Sumatra é dado como transmittido por *Trombicula deliensis* Walch, 1923, sendo suspeitadas de tambem fazel-o a *Trombicula keukenschrijveri* e outra *Trombiculinae,* de genero muito proximo

de *Trombicula*, a *Schöngastia schüffneri*. Ao accusar *Trombicula deliensis* alinha Walch (10) uma serie de argumentos em defesa de sua hypothese, entre as quaes a proximidade desta especie de *Trombicula akamushi*, sua distribuição geographica, parasitismo dos ratos e do homem, etc.. A mesma especie é ainda accusada de transmittir o typhus tropical dos Estados Malayos, em trabalho de Fletcher, Lesslar e Lewthwaite (11), os quaes baseam sua crença em observações epidemiologicas nas quaes estudam a fauna de acarianos e de roedores da região.

No caso das febres exanthematicas da China e do Mexico, tem já sido externada a suspeita de transmissão por *Trombicula* (12).

Ao passo, porém, que o conhecimento scientifico do papel representado pelas trombiculas na vehiculação de infecções deste grupo foi sendo adquirido paulatinamente, á custa do esforço de muitos investigadores, que baseavam suas pesquisas na analogia do que já estava estabelecido para a transmissão de outras infecções por arthropodos, a suspeita ou mesmo o conhecimento empirico deste papel era já do dominio das civilizações anteriores á occidental.

Sambon (12), em trabalho notavel, em que amenisa a aridez das descripções systematicas com judiciosas considerações philosophicas e historicas sobre o papel dos *Trombidiidae* em nosologia, refere que, tendo Hatori citado uma obra chinesa do seculo XVI, intitulada *Honzo Komoku* (Systema de Historia Natural), em que se faria referencia á transmissão de febre por um acariano, procurou consultal-a no Departamento Oriental do Museu Britannico. Ahi encontrou a obra procurada, *Pên ts'ao Kang Mu*, compilada por *Li Shih-chên*, da dynastia Ming, e de que *Honzo Komoku* representa a versão japonesa, obra da qual cita topicos que deixam pouca duvida, sobre o conhecimento das *Trombicula* e da infecção por ellas determinada, por parte de quem escreve a obra e seus contemporaneos.

A proposito do "tabardillo" mexicano, que hoje se sabe ser tambem uma febre exanthematica, chama Sambon (*loc. cit*) a attenção para a semelhança dos nomes indigenas: da molestia (*matlalzahuatl*) e de um acariano do genero *Trombicula*, *Trombicula irritans* (*tlalzahuatl*), vendo nisto nem mais nem menos do que a associação da causa e do effeito, descoberta empirica dos nativos. Justifica este modo de ver pelo que observou Koch no Leste da Africa, onde os indigenas designavam a malaria e o mosquito transmissor pelo mesmo nome "*mbu*", e pela verificação de Brumpt entre os Gallas, Abyssinios e Somalis, onde a palavra "*gurud*" indica ao mesmo tempo a febre recurrente e o carrapato vector.

Embora a interpretação de Sambon não tenha ainda recebido sancção scientifica, não deixa por isso de ser extremamente judiciosa, indicando aos pesquisadores que ultimamente se têm occupado com a transmissão do typho endemico norte-americano uma nova idéa a explorar.

Deante do exposto comprehender-se-a que todos os que se quiserem occupar com o problema da transmissão das rickettsioses deverão lançar suas vistas para o importante papel das trombiculas, investigando si, ao lado de outros vectores,

não poderão esses acarianos ser incriminados. Foi o que nos decidimos a fazer a proposito da rickettsiose paulista, embora nada até hoje constasse na literatura scientifica a respeito da existencia de trombiculas na região em que se tem manifestado a infecção.

Além da simples analogia a que insensivelmente somos levados ao investigar infecções de um mesmo grupo, razões outras, de ordem epidemiologica, conduziram o auctor a alimentar a desconfiança de que o papel de vehiculador da *Rickettsia brasiliensis* possa ser desempenhado por um acariano deste genero.

Estes argumentos podem ser resumidos nos seguintes factos:

1.º) a infecção é predominantemente rural;

2.º) só foi encontrado carrapato em 1 doente entre 60 observados no Hospital do Isolamento;

3.º) existem varias especies de *Trombicula* na zona em que predomina a infecção;

4.º) a um exame summario passarão fatalmente despercebidas as *Trombicula* porventura existentes sobre doentes;

5.º) são abundantes na zona infectada ratos e outros pequenos animaes possiveis depositarios do virus;

6.º) são muito raras as pulgas de ratos na zona mais infectada.

Analysemos os argumentos adduzidos em favor desta hypothese.

1.º) A infecção é predominantemente rural.

Esta verificação, quasi por si só permitte excluir a hypothese da transmissão por pediculideos, syphonapteros e cimicideos, pois não ha razão para que se admitta serem os primeiros e os ultimos mais abundantes na zona rural do que na zona urbana, onde suas condições de proliferação são possivelmente melhores devido á menor hygiene observada nas habitações collectivas ou mesmo individuaes de certos bairros. Tratando-se de parasitas adaptados ao homem, não ha tambem motivo para se acreditar que os de zona rural estejam infectados, ao passo que os de zona urbana estejam indemnes. Quanto aos pulicideos, nossa experiencia, documentada em trabalho publicado em collaboração com Alcides Prado (13), prova que são muito mais abundantes na zona urbana, onde a infecção é muito mais rara. Além disso, esses ectoparasitas, colhidos em condições optimas, não se mostraram infectados, segundo observaram Lemos Monteiro, Alcides Prado e o proprio auctor (14). Além dos dipteros hematophagos e de raros outros ectoparasitas de animaes domesticos, até hoje ainda não accusados da transmissão da infecção deste grupo, só restam, portanto, como evidentemente suspeitos, os acarianos, ixodidas ou outros.

2.º) Só em um doente até hoje foi encontrado um carrapato.

Entre mais de 60 doentes que deram entrada no Hospital do Isolamento só uma vez foi possivel observar fixado um carrapato, relatando um outro doente

historia pregressa recente de picada por arthropodo que desconhecia e que informaram ser carrapato. Experiencias por nós realizadas em collaboração com Lemos Monteiro e Alcides Prado (5,6) demonstraram que varias especies de carrapatos, dos generos *Amblyomma*, *Boophilus* e *Ornithodoros* são sensiveis ao virus do typho exanthematico, principalmente o *Amblyomma cajennense*, que pode adquirir e transmittir a infecção a cobaias pela simples picada, infectando além disso a sua prole.

A estas verificações experimentaes seguiram-se a observação, relatada no trabalho de Piza, Meyer e Salles Gomes (15), de um doente que trazia ainda fixado ao braço um carrapato que os auctores identificam ao *Amblyomma cajennense* e uma outra observação dos mesmos auctores de uma doente que relatou historia recente de picada por arthropodo que não conhecia e que informaram ser carrapato. Esses factos, alliados ao de ser esta especie de carrapatos commum na zona infectada, bem como as circumstancias de ordem morphologica, biologica e experimental, que demonstram estar o *Amblyomma cajennense* em melhores condições de sugar o homem e de transmittir a infecção do que o *Boophilus microplus*, fazem daquella especie o alvo das mais accentuadas e justificadas suspeitas. Por outro lado, porém, não deixa de ser em extremo chocante o facto de só uma vez ter sido capturado um carrapato em flagrante parasitismo, quando é sabido que os carrapatos da familia *Ixodidae*, os unicos que occorrem na zona infectada, permanecem por longo tempo fixados a seus hospedeiros. Segundo as verificações experimentaes emprehendidas neste Instituto, o lapso necessario á incubação do virus após a picada infectante em cobaias é relativamente pequeno e permittiria, pelo menos em um numero regular de casos, fossem os carrapatos ainda colhidos em parasitismo, após o apparecimento dos symptomas. Embora não estejamos pensando em transportar integralmente para a especie humana o que se verifica naquelle animal de laboratorio, estes dados são os unicos que possuimos no assumpto em causa, e a analogia com o periodo de incubação necessario ás infecções melhor conhecidas do grupo permitte acreditar não seja longo esse periodo.

Estamos plenamente convencido, á vista dos resultados que obtivemos, de que *Amblyomma cajennense* é, sinão o vector responsavel, pelo menos um dos possiveis; sinão o transmissor habitual, pelo menos um factor accidental, mas perfeitamente capaz de transmittir ao homem a *Rickettsia brasiliensis*, desde que o acaso o colloque entre o depositario infectado, que a epidemiologia da infecção demonstra existir, e o homem receptivel.

Não sabemos si, no caso citado de parasitismo de um doente por *Amblyomma cajennense*, foram instituidas experiencias de picada e inoculação do carrapato encontrado, bem como as necessarias provas de immunidade das cobaias. A probabilidade maior é, porém, que o citado carrapato estivesse infectado, sinão anteriormente, pelo menos após a refeição sanguinea no doente, dada, segundo observamos, a elevada percentagem de carrapatos desta especie que se infectam ao alimentar-se nas cobaias.

Não impede, todavia, essa crença a possibilidade da existencia de um outro vector, que explique o ponto obscuro acima citado: a raridade do encontro de carrapatos sobre os doentes. Este ponto seria cabalmente esclarecido caso se viesse a demonstrar ser a transmissão effectuada por acarianos de dimensões exiguas como as trombiculas, que só um pesquisador prevenido poderá encontrar.

3.°) Existem varias especies do genero *Trombicula* na zona em que predomina a infecção.

Em nota que opportunamente será publicada teremos occasião de demonstrar ser frequente na zona infectada o encontro de varias novas especies de trombiculas, o que vem collocar o problema do *typhus* paulista em situação de grande semelhança com o *tsutsugamushi* japonês e o *pseudotyphus* de Java.

4.°) A um exame summario passarão fatalmente despercebidas os exemplares de *Trombicula* porventura existentes sobre os doentes.

Já nos referimos a este ponto, mas, para ainda uma vez reforçal-o, esclareceremos que o comprimento maximo de um exemplar repleto de sangue só raramente ultrapassa 500 *micra*, sendo em media de *ca* 250 *micra*. Além disso, sua côr e a reacção local provocada pelo parasitismo no homem serão facilmente mascaradas pela erupção petechial dos doentes.

5.°) Por serem abundantes na zona infectada ratos e outros pequenos animaes possiveis depositarios do virus.

Demonstrando a epidemiologia a existencia de um depositario e sendo sabido que os exemplares de *Trombicula* se vão infectar em roedores, a existencia destes dois elementos demonstra a viabilidade da hypothese

6.°) As pulgas de ratos são muito raras na zona infectada.

Admittindo a hypothese de que os ratos sejam depositarios do virus do *typhus* paulista, o que não está demonstrado, pois o virus isolado de ratos por Monteiro e Fonseca não é identico ao humano (16), ainda assim, como verificaram Prado e Fonseca (13), o indice pulicideano dos ratos da zona mais infectada é tão baixo que difficilmente explicaria a transmissão. Além disso, as raras pulgas existentes não se mostraram infectadas. Sabido como é que as Trombiculas parasitam frequentemente ratos, deduz-se, ainda uma vez, que a hypothese da infecção de taes acarianos é plausivel.

Fica deste modo justificada a origem e razão de ser das "Notas de Acareologia" que figuram neste volume, bem como das que porventura a estas se seguirem, como si para tal não bastasse o interesse scientifico puro de um grupo tão curioso, o que no juizo de muitos poderia parecer insufficiente.

## SUMMARIO

De accordo com os dados epidemiologicos, a hypothese da transmissão da *Rickettsia brasiliensis* Monteiro, 1931 por um acariano do genero *Trombicula* deverá ser tomada em consideração.

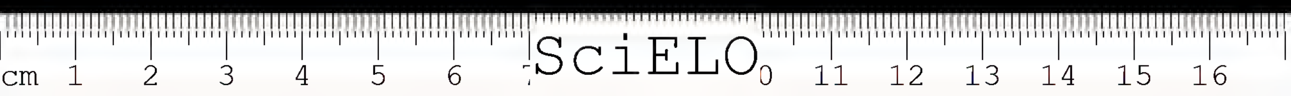
## ABSTRACT

In the light of the epidemiological work on the S. Paulo typhus the rôle played by a mite (gen. *Trombicula*) in the transmission of this infection requires further study.

---

## BIBLIOGRAPHIA

1. 2. *Cowdry, E. V.* — J. Exp. Med. XLII:231, 253.1925.
3. *Durand, P. & Conseil, E.* — Arch. Inst. Past. Tunis XX(1):54.1931.
4. *Zinsser, H. & Castañeda, R.* — J. Exp. Med. LIV(1):11.1931.
5. *Monteiro, J. Lemos; Fonseca, F. da & Prado, A.* — Brasil Medico XLVI(3):49.1932.
6. *Monteiro, J. Lemos & Fonseca, F. da* — Brasil Medico XLVI(48):993.1932; Communicação á Soc. de Biol. de S. Paulo, em 8.VII.1932
7. *Dove, W. E. & Shelmire, B.* — J. Amer. Med. Ass. XCVII(21):1506.1931.
8. *Miyajima, M. & Okimura, T.* — Kitasato Arch. Exp. Med. I(1):1.1917.
9. *Hatori, I.*— Ann. Trop. Med. Parasit. XIII(3):233.1919.
10. *Walch, E.* — Kitasato Arch. Exp. Med. V(3):63.1923.
11. *Fletcher, W.; Lessler, J. E. & Lewthwaite, R.* — Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. XXII(2):161.1928.
12. *Sambon, L.* — Ann. Trop. Med. Parasit. XXII(1):67.1928.
13. *Fonseca, F. da & Prado, A.* — Rev. Med. & Cir. Brasil XL(3):4.1932.
14. *Monteiro, J. Lemos; Fonseca, F. da & Prado, A.* — Brasil Medico XLVI(8):169.1932.
15. *Piza, J. T.; Meyer, J. R. & Gomes, L. Salles* — Typho exanthematico de S. Paulo (Soc. Impressora Paulista. S. Paulo) 1932.
16. *Monteiro, J. Lemos & Fonseca, F. da* — Brasil Medico XLVI(50):1029, 1932. Communicação á Soc. de Biol. de S. Paulo, sessão de 8.XI.1932.


SciELO

616.968.5

# NOTAS DE ACAREOLOGIA

## II. *Ichoronyssus butantanensis*, sp. n. *(Acarina, Dermanyssidae)*.

(NOTA PREVIA)

POR

FLAVIO DA FONSECA

Em meiados de 1930 capturámos sobre um camondongo branco, *Mus musculus*, var. *albinus*, da criação do bioterio da Faculdade de Medicina de S. Paulo, secção da cadeira de Microbiologia, numerosos exemplares de um acariano pertencente á familia *Dermanyssidae*, genero *Ichoronyssus* Kolenati.

Os representantes desta Familia são de regra parasitas de roedores, aves, morcegos, etc., numerosos existindo descriptos na literatura. Um delles, *Liponissus bacoti* (Hirst, 1913), parasita ratos e entre nós tambem os preás (*Cavia aperea*), apresentando importancia consideravel, não só porque pode igualmente parasitar o homem, determinando uma dermatose particular, segundo têm demonstrado varios observadores, como e principalmente por já ter sido accusado de transmittir ao homem rickettsias de varias modalidades do typho exanthematico (Veja-se adiante nota sobre o parasitismo do homem por *Liponissus bacoti*).

A especie que descrevemos no presente trabalho, distingue-se de todas as outras do genero, como se deprehende da descripção da femea tomada como typo.

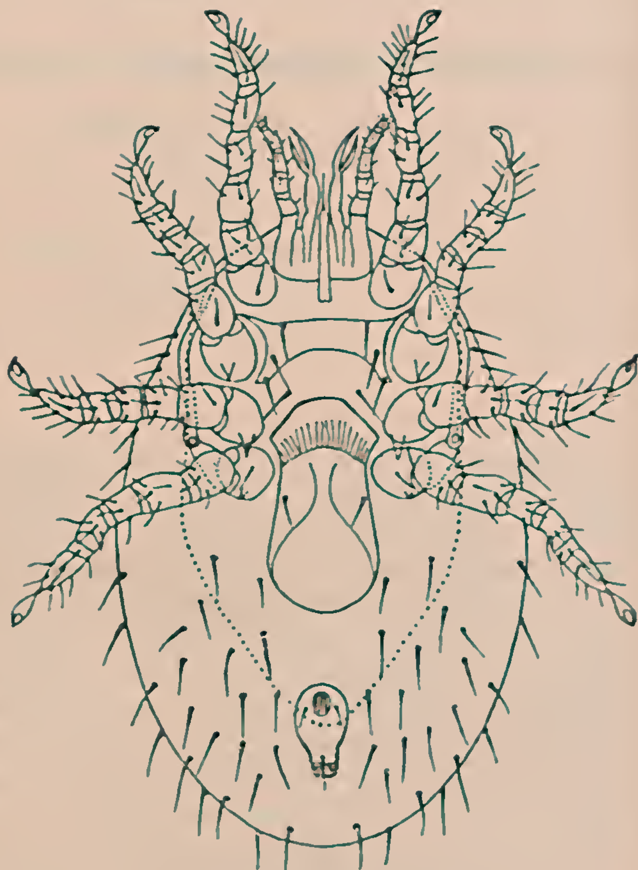
*Femea* — Comprimento: 0mm.670. Largura: 0mm.330 ao nivel do IV par de patas. As variações, quer de largura, quer de comprimento, são pequenas. A fórma é elliptica bastante regular. A coloração é branca-amarellada, vista a olho nú. O corpo é pouco piloso e o tegumento molle, finamente estriado.

*Face ventral* — *Placa esternal*: cerca de cinco vezes mais larga do que longa, situada entre as coxas do II par, fortemente concava no bordo posterior e suavemente ondulada no anterior; angulos fortemente pronunciados, sendo os anteriores afilados; tres pares de cerdas iguaes situadas numa mesma linha antero-pos-

terior; os anteriores implantados directamente no bordo anterior, são os mais internos; os medios um pouco afastados dos bordos lateraes; os posteriores, situados nas projecções posteriores da placa esternal, são marginaes.

*Placa genito-ventral* — apresenta largura notavel, relativamente ao seu comprimento, principalmente proximo á extremidade posterior, sendo o ponto mais estreito o que se encontra ao nivel da coxa IV; extremidade posterior arredondada, terminando a consideravel distancia da placa anal; um par de cerdas sub-marginaes, de comprimento igual ao das esternaes, ao nivel do bordo posterior da coxa IV.

*Placa anal* — Ligeiramente piriforme, com orificio anal proximo da margem anterior; tres cerdas, ficando o par anterior, de cerdas menores, immediatamente para trás de uma linha traçada pelo meio do orificio anal e no meio do espaço comprehendido entre o rebordo anal e as margens lateraes; cerda posterior afastada da margem posterior do anus por distancia maior que seu comprimento; cerdas menores que as das outras placas.



Ichoronyssus butantanensis, sp. n.

*Estigmas* — Situados ao nivel do bordo posterior da coxa III.

*Peritremas* — Visiveis desde o meio da coxa IV até o bordo anterior da coxa I. *Patas* — IV e I pares são as mais longas. Coxa III com um forte espinho, coxa II com espinho menor e coxa IV com espinho muito pequeno. Femures I e II com 2 cerdas spiniformes. Tibia I pouco mais longo do que largo e tibia II tão longo quanto largo.

*Face dorsal* — *Escudo* integro cobrindo grande parte do cephalothorax e parte do abdome, de faces a principio parallelas, com ligeira depressão ao nivel do III par de patas, convergindo desde atrás do IV par até a placa anal, ao nivel de cujo meio termina em larga ponta rhomba. Pouco cerdoso, apresentando cerca de doze cerdas sub-marginaes de cada lado.

Macho — Apesar de termos montado grande numero de paratypos, não nos foi dado encontrar macho algum.

*Habitat* — Grande numero de exemplares (adultos e nymphas) capturados sobre um mesmo especime de *Mus musculus*, var. *albinus*.

*Patria* — S. Paulo? Não nos é possivel garantir tratar-se de especie de S. Paulo ou mesmo do Brasil, pois a criação de camondongos em que foi encontrada provinha do Rio de Janeiro, de onde foram trazidos alguns exemplares cerca de cinco annos antes e para onde parece ter sido levada da Republica Argentina. Aliás, em ratos escuros capturados em local proximo nunca observámos parasitismo por esta especie. E', aliás, mais provavel que os exemplares capturados parasitassem accidentalmente o camondongo, não sendo este seu habitat natural.

*Holotypo* — Montado em lamina da collecção do Instituto Butantan e assignalado.

*Paratypos* — Na mesma collecção, montados e conservados em alcool.

## ABSTRACT

A new species is described of a dermanyssid mite, genus *Ichoronyssus* Kolenati, found on a heavily infested white mouse, *Mus musculus*, var. *albinus*. The new species, *I. butantanensis*, may be characterized as follows:

### Description of the

Lenght, 0mm.67; width, 0mm.33 at the level of leg IV. Shape elliptical, colour, by naked eye, yellowish white. Scarcely setous body, with striated soft tegument.

*Ventral side* — *Sternal plate* about five times as broad as long, lying between second coxae; posterior margin deeply concave; angles well pronounced, anterior ones slender; six paired setae in two straight antero-posterior rows; first pair of sternal setae directly on front margin and next to median line; median pair at some distance from lateral margins; posterior pair marginal, at posterior projections of sternal plate.

*Genito-ventral plate* — Very broad, especially at posterior end, narrower at level of coxae IV; posterior extremity broadly rounded at a considerable distance





of anal plate: one pair of sub-marginal setae, as long as sternal one, at level of coxae IV.

*Anal plate* — Piriform, anus near front margin; paired setae smaller than posterior one, a little behind middle of anal aperture, halfway between rim of anus and lateral margins of anal plate; posterior seta a little over its lenght from posterior margin of anus; setae smaller than those of other plates.

*Stigmata* at level of posterior margin of coxae III. *Peritremata* visible from middle of coxae IV to front margin of coxa I.

*Legs* I and IV longest. Coxa III with a stout spine, coxa II with a smaller and coxa IV with a very small spine. Femora I and II with two spine-like setae. Tibia I slightly longer than wide; tibia II as long as wide.

*Dorsal side* — *Shield* covering most of cephalothorax and part of abdomen, with lateral margins parallel in front, with a depression at level of III legs and converging from behind leg IV to level of middle of anal plate, with a broad distal end; scarcely setous, with about 24 sub-marginal setae.

*Habitat* — Found swarming on *Mus musculus*, var. *albinus*.

*Patria* — S. Paulo.

*Holotype and paratypes* — All in the collection of the Instituto Butantan.

616.968.5

# NOTAS DE ACAREOLOGIA

## III. Parasitismo do homem e de *Cavia aperea* por *Liponissus bacoti* (Hirst, 1913) *(Acarina, Dermanyssidae)*

POR

FLAVIO DA FONSECA

Entre os acarianos da familia *Dermanyssidae* é sem duvida *Liponissus bacoti* (Hirst, 1913), originalmente descripto no genero *Leiognathus* Canestrini, o que maiores relações apresenta com a parasitologia humana.

O interesse por elle ultimamente despertado augmenta dia a dia com as observações repetidas de parasitismo do homem e com a presumpção de tratar-se de um possivel vehiculador de certas modalidades do typho exanthematico americano e europeu, servindo de intermediario entre o rato, reservatorio natural provado da *Rickettsia* que determina aquella forma da infecção, e o homem. Foi mesmo demonstrado, nos ultimos meses do anno findo, ser possivel a transmissão experimental do "typhus" norte-americano por intermedio deste acariano.

Já em 1914 assignalava Hirst (1) que *Liponissus bacoti* fôra capturado varias vezes na Australia, parasitando o homem. Em 1923 Bishopp (2) refere casos de invasão de edificios inteiros em quarteirões commerciaes de cidades do Texas, encontrando-se os incommodos acarianos desde o 1.º até ás vezes o 10.º andar de um predio. A infestação de domicilios era rara, observando-se mais frequentemente em casas commerciaes, cinemas, estações de estradas de ferro, etc.. Sua presença tinha como consequencia o parasitismo do homem, determinando prurido e dor. Refere casos de pessoas que, em consequencia de picadas de varios acarianos, sentiram-se doentes, apresentando febre e máo estar geral, o que attribue, sem grande razão, aliás, á excitabilidade desses individuos. Como consequencia das picadas observam-se prurido e petechia.

Maxey, em 1929 (3), externa a suspeita de serem acarianos possiveis vectores do "typhus" norte-americano.

Em 1931 Shelmire e Dove (4) colligem uma serie de observações de parasitismo do homem pelo *Liponissus bacoti*, documentando com photographias a con-

sequencia dos disturbios por elle causados, montando a mais de 200 os casos de parasitismo humano observados. Lesões semelhantes á urticaria, papulas e vesiculas de situação variavel, exigindo diagnostico differencial com picadas de percevejos, piolhos do corpo e outros hematophagos, bem como escabiose, são as lesões por elles verificadas, aggravadas, ás vezes, por infecção secundaria. Foi comprovada a infestação de casas particulares, hoteis, casas de negocio, cinematographos, etc.

A simultaneidade do apparecimento da *"rat-mite dermatitis"* e do typho exanthematico no Texas, bem como a existencia comprovada do *Liponissus bacoti* em casas de doentes de "typhus", levaram os auctores a crer na possibilidade de ser este acariano o transmissor da infecção ao homem.

Como consequencia dessas suspeitas, levaram Dove e Shelmire a effeito uma serie de pesquisas, cujos resultados, relatados em Novembro de 1931 (5), provam a possibilidade de infectar experimentalmente o *Liponissus bacoti* com a *Rickettsia* da fórma norte-americana do "typhus", demonstrando não só a presença de *Rickettsia* em cortes histologicos de *Liponissus* infectados, como a transmissão da infecção a ratos e cobaias por picadas de acarianos alimentados alguns dias antes em animaes infectados, verificações estas que emprestam consideravel importancia ao *Liponissus* em pathologia.

Finalmente, ainda em 1931, Netter (6) incrimina *Liponissus bacoti* como um possivel transmissor da molestia de Brill ou typho endemico benigno.

*Liponissus bacoti* teve sua presença assignalada no Egypto, Abyssinia, Australia e em varias localidades da America do Norte (4). Na America do Sul apenas consta a sua existencia na Argentina, onde foi capturado já em 1912 (7). (*)

Encontramol-o em S. Paulo em Setembro do corrente anno, no decurso de pesquisas emprehendidas em collaboração com os drs. Lemos Monteiro e Alcides Prado, deste Instituto.

Nas primeiras vezes em que nos foi dado observal-o, capturámos numerosos exemplares parasitando intensamente um pequeno Cavideo muito commum em varios Estados do Brasil, o preá, *Cavia aperea.*

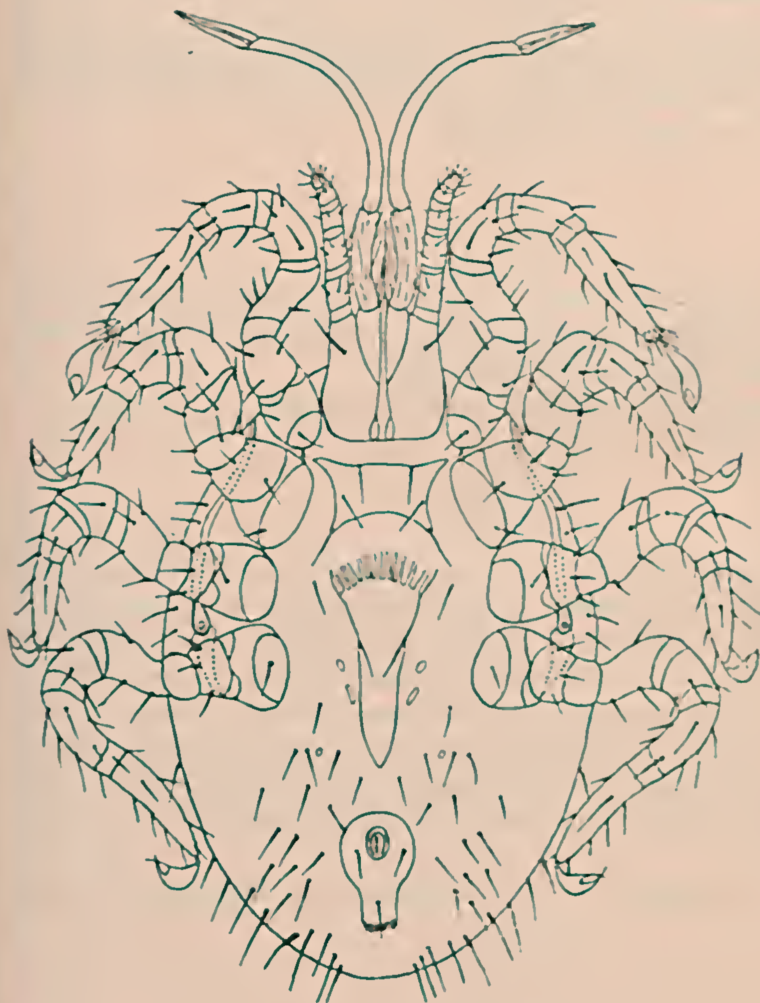
De nove exemplares de preás capturados nos arredores da cidade, seis se mostraram parasitados por *Liponissus bacoti,* que parece ter-se adaptado perfeitamente ao parasitismo dos preás, pois é encontrado em grande numero, estando quasi todos os exemplares repletos de sangue, que os distende e dá coloração escura, de um negro avermelhado.

Contrasta com a frequencia e abundancia nos preás e raridade de *Liponissus bacoti* nos ratos por nós examinados, provenientes do mesmo local onde tinham

(*) Depois de concluida e entregue á impressão esta nota, foi-nos dado conhecer o trabalho de Oudemans (9) em que este auctor assignala a presença inesperada de *Liponissus bacoti* na Europa, tendo examinado material capturado em Hamburgo atacando o homem e apparecendo periodicamente, mesmo no inverno.

sido capturados os preás. Em trabalho publicado com Alcides Prado já salientámos ter sido raro o encontro desse acariano em 118 ratos, cuja fauna de ectoparasitas foi cuidadosamente examinada.

O aspecto do acariano em parasitismo nos preás, augmentado de volume devido ao gráo de repleção, bem como a sua frequencia nestes pequenos cavideos, em opposição á sua raridade nos ratos da mesma zona, fez-nos a principio suspeitar pudesse tratar-se de uma outra especie de *Liponissus*.



**Liponissus bacoti (Hirst, 1913)**

Os caracteres minuciosos de importancia especifica, porém, coincidem plenamente em todos os casos com a diagnose original do *Liponissus bacoti* (9), bem como com os caracteres addicionaes posteriormente descriptos pelo auctor da especie (1), tratando-se apenas de um caso de adaptação a um novo hospedeiro, o qual, provavelmente, por defender-se menos do que ratos, é mais frequente e mais intensamente parasitado.

Além dessas observações de parasitismo de preás e ratos, foi-nos dado tambem observar, em collaboração com Lemos Monteiro e Alcides Prado, a presença deste acariano no homem, tendo sido colhido um exemplar na cabeça de uma

criança parasitada tambem por *Pediculus capitis*, observação de interesse tanto maior, quanto acabára de ser diagnosticado um caso de typho exanthematico na residencia do pequeno portador.

Tivemos opportunidade de observar postura e eclosão de ovos dos exemplares capturados sobre preás, os quaes podem ser mantidos vivos durante alguns dias fóra do hospedeiro.

Os ovos, de côr branco-amarellada, postos em agglomerados de cerca de 30-50, ficam agglutinados: conservados á temperatura ambiente (± 18.°), iniciaram a eclosão tres dias depois de postos. As larvas sahem por um dos pólos, evolvendo para nymphas ao cabo de poucas horas.

## SUMMARIO

O auctor encarece a importancia parasitologica do *Liponissus bacoti* (Hirst, 1913) baseado em verificações de parasitismo do homem na transmissão experimental do "typhus" obtido na America do Norte.

Assignala a presença do *Liponissus bacoti* em São Paulo, parasitando o homem, o preá e o rato.

## ABSTRACT

*Liponissus bacoti* (Hirst, 1913) is reported from S. Paulo, Brazil, as a parasite of *Cavia aperea*, a very common Brazilian rodent. Most of the specimens of this Cavid caught in the suburbs of S. Paulo city have been found infested by that mite which seems to be well adapted to its new host. Rats (*Epimys norvegicus, Mus rattus* and *M. musculus*) from the same localities are infested rather infrequently. *L. bacoti* was found in the course of investigations aiming at the discovery of the natural vectors of endemic typhus in S. Paulo, a specimen of it having been caught on a child in whose home a case of this disease had been reported at that occasion.

Oviposition of females has also been observed and the hatching of their eggs followed.

---

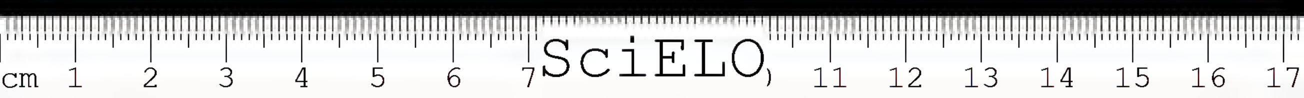
## BIBLIOGRAPHIA

1. *Hirst, S.* — On the parasitic acari found on the species of rodents frequenting human habitations in Egypt — Bull. Ent. Res. V:215.1914.
2. *Bishopp, F. C.* — The rat mite attacking man — U. S. Dept. Agr., Dep. Circ. 294.1923.
3. *Maxcy, K. F.* — Typhus fever in United States — Publ. Health Rep. XLIV:1735.1929.
4. *Shelmire, B. & Dove, W.* — The tropical rat mite *Liponyssus bacoti* Hirst, 1914, etc.: J. Amer. Med. Assn. XCVI(8):579.1931.

5. *Dove, W. & Shelmire, B.* — Tropical rat mites *Liponyssus bacoti* Hirst, vectors of endemic typhus — J. Amer. Med. Assn. XCVII(21):1506.1931.
6. *Netter, A.* — Existence sur le littoral méditerranéen, etc. — Bull. Acad. Méd. CV(25):1017.1931.
7. *Ewing, H. E.* — The Dermanyssidae mites of North America — Proc. U. S. Nat. Mus. LXII(13):1-26.1922.
8. *Hirst, S.* — On three new species of gamasid mites found on rats — Bull. Ent. Res. IV:119-124.1913.
9. *Oudemans, A. C.* — Acarologische Aanteekeningen CXI — Entomolog. Berichten, Deel VIII(182):312-331.1931.






cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

616.963.5

# NOTAS DE ACAREOLOGIA

## IV. Presença do *Ophionyssus serpentium* (Hirst, 1915) *(Acarina, Dermanyssidae)* no serpentario do Instituto Butantan

POR

FLAVIO DA FONSECA

Em meiados do anno passado, procurando capturar Ixodideos em ophidios conservados no serpentario do Instituto, observámos que grande numero destes animaes se apresentavam parasitados por acarianos.

Syndicando o facto, obtivemos do director, dr. Afranio do Amaral, a informação de remontar a infestação do serpentario á epoca (1929) em que o Instituto foi presenteado por um particular com um exemplar de pythão (*Python reticulatus*) de proveniencia ignorada, infestado por acarianos.

Examinando exemplares clareados e montados pela technica usual, verificámos tratar-se de um *Dermanyssidae* do genero *Ophionyssus* Mégnin, 1884, coincidindo a especie com a descripção do *Ophionyssus serpentium* (Hirst, 1915), apresentada por Ewing (1) em seu trabalho sobre os *Dermanyssidae* norte-americanos, onde vem descripto no genero *Serpenticola* Ewing, 1923, hoje synonymo de *Ophionyssus* Mégnin, 1884 (2). Originalmente foi a especie descripta sob o nome *Ichoronyssus serpentium* Hirst, 1915 (3), tambem tendo sido collocado no genero *Liponissus*.

Os dois escudos dorsaes existentes na femea, bem como a pequenez do escudo posterior e a existencia de apenas dois pares de cerdas na placa esternal, caracterizam o genero, sendo a especie identificada pelo grande intervallo existente entre os dois escudos citados, numero de cerdas do escudo anterior e alguns outros caracteres que o distinguem de *Ophionyssus easti* (Ewing, 1825) (4).

*Ophionyssus serpentium* parece não apresentar especificidade parasitaria, pois o temos capturado ultimamente sobre varias especies de ophidios brasileiros mantidos no serpentario do Instituto.



Ophionyssus serpentium (Hirst, 1915)

## ABSTRACT

The presence of *Ophionyssus serpentium* (Hirst, 1915) was recently disclosed specially on snakes confined in the show cages, at the Instituto Butantan, which were intensely parasited by that mite. The presence of this acarian in Brazil seems to be entirely accidental as it was introduced into the Butantan snake garden with a specimen of *Python reticulatus* from unknown origin, which was offered to this Institute in 1929.

---

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Ewing, H. E.* — The Dermanyssid mites of North America — Proc. U. S. Nat. Mus. Washington LXII(13):1-6.1922.
2. *Ewing, H. E.* — Manual of external parasites, London. :14.1929.
3. *Hirst, S.* — On a blood-sucking Gamasid mite, etc. — Proc. Zool. Soc. London :383.1915.
4. *Ewing, H. E.* — New mites of the family *Dermanyssidae* (*Acarina*) — Entom. News XXXVI :18.1925.

616.968.5

# NOTAS DE ACAREOLOGIA

## V. *Trombicula butantanensis*, sp. n. *(Acarina, Trombidiidae)*

POR

FLAVIO DA FONSECA

Em Fevereiro do corrente anno, o assistente-chefe deste Instituto, J. B. Arantes, no decurso de seus estudos sobre parasitas de serpentes, encontrou sobre si uma larva de acariano desde logo reconhecida como pertencente á fam. *Trombidiidae*, sub-familia *Trombiculinae*, pelas suas exiguas dimensões, cor vermelha caracteristica e pela reacção intensa provocada pelos poucos exemplares em parasitismo.

O exame minucioso, após clareamento, por mim realizado revelou tratar-se de uma larva pertencente ao genero *Trombicula* Berlese, a qual differe das descripções das outras especies brasileiras e sul-e norte-americanas.

### DESCRIPÇÃO

Larva de côr vermelha, engorgitada, com 480 × 300 *micra* ao nivel do III par de patas.

*Palpos* — Dobrados em angulo recto. Articulo proximal (1 + 2) com 1 cerda com 3 ou 4 filamentos (1.ª cerda palpal). O articulo seguinte (3.º) tem uma cerda núa (2.ª cerda palpal). O penultimo articulo (4.º) apresenta uma cerda basal pectinada com cerca de 2 filamentos e 2 cerdas apicilares núas. O ultimo articulo, ou appendice (5.º), apresenta, aparentemente, 7 cerdas, das quaes 2 são lisas. Garra do palpo bifurcada, com ramo dorsal um pouco maior e mais forte.

*Chelíceras* — Afilando-se bruscamente no apice onde apresentam um dente dorsal e um pequenissimo ventral, no apice.

Collar rostral com um par de cerdas núas.

*Face dorsal* — Escudo dorsal finamente pontilhado, bem mais largo do que longo, com um bordo anterior ligeiramente concavo e o posterior fortemente convexo, medindo de largura 92 e de comprimento 35 *micra* ao nivel das faces lateraes e 55 *micra* na altura da cerda mediana. Apresenta 5 cerdas no escudo, excluindo os organs pseudo-estigmaticos: as duas antero-externas situadas um pouco para trás do bordo anterior e para dentro do bordo lateral; a mediana acha-se afastada do bordo anterior tal como as antero-lateraes; as postero-externas se encontram nos angulos agudos formados pelas faces lateraes e posterior. Todas as cerdas são pectinadas.

Pseudo-estigmas a igual distancia das cerdas antero-lateral e postero-lateral do lado respectivo, bem como da mediana. Orgãos pseudo-estigmaticos com cerdas longas, com cerca de 7 filamentos na 1/2 distal.



**Trombicula butantanensis**, sp. n.

Os olhos anteriores situados na altura dos pseudo-estigmas; olhos posteriores não visiveis.

Cerdas dorsaes exclusive as do escudo 24, inclusive as humeraes.

*Face ventral* — Cerdas ventraes, inclusive os dois pares entre as coxas I e III, 16, dispostas em 8 pares, naturalmente devido ao estado de repleção do exemplar capturado. Anus na frente do 7.° par de cerdas ventraes.

*Membros* — I — Coxa porosa com uma cerda filamentosa de situação posterior. Trochanter e basifemur com 1 cerda filamentosa cada um. Telofemur com 5 cerdas filamentosas. Genual com 4 cerdas pillosas e 2 lisas. Tibia com 6 cerdas pillosas e 1 lisa. Tarso com mais ou menos 11 cerdas pillosas e 4 lisas e 1 espinho forte.

II — Coxa porosa, com uma cerda filamentosa de situação posterior. Trochanter com 1 cerda filamentosa, longa. Basifemur com 2 cerdas filamentosas. Telofemur com 3 cerdas filamentosas. Genual com 3 cerdas filamentosas e 1 lisa. Tibia com 5 cerdas filamentosas e 2 lisas. Tarso com 7 cerdas filamentosas e 2 lisas.

III — Coxa porosa, com cerda filamentosa de situação anterior. Trochanter com 1 cerda filamentosa longa. Basifemur com 1 cerda filamentosa. Telofemur com 3 cerdas filamentosas. Genual com 2 cerdas filamentosas e 2 lisas. Tibia com 5 cerdas filamentosas e 1 lisa. Tarso com 8 cerdas filamentosas e 1 lisa.

A descripção das cerdas dos 3 pares de patas e do 5.º articulo palpal é tão approximada quanto permitte a delicadeza desses elementos.

*Typo* — Exemplar unico, repleto, colhido sobre *Homo sapiens* no Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil, em Fevereiro de 1932, conservado em lamina na collecção do Instituto Butantan.

## ABSTRACT


Last February, a larva of an *Acarina* was found attached to the skin of a person. Upon examination that larva was easily identified as belonging to a mite of the sub-family *Trombiculinae* in view of its small size, characteristic red colour and the strong reaction it caused on the human host. Upon closer examination after convenient clearing and mounting the larva proved to belong in the genus *Trombicula*, being, howerer, different from all the South and North American species as already described.

*Definition* — Red, engorged larva, 480 μ long and 300 μ wide at level of III pair of legs.

Palpi angulated. First palpal seta with 3 or 4 barbs; second palpal seta simple. Segment 4 bearing a basal seta with 2 barbs and 2 simple apical setae. Last segnment of palpi with about 5 filamentous and 2 simple setae. Palpal claw bifurcate, external prong a little longer and stouter, Chelicerae with a dorsal and a ventral minute tooth. Dorsal plate porous, much broader than long, 35 μ long laterally and 55 μ centrally and 92 μ wide along anterior margin. Dorsal plate with 5 setae, pseudostigmatic organs excluded: antero-external lying at some distance from anterior and lateral sides; median-anterior seta at same level postero-external setae lying along posterior angles; all these setae filamentous. Pseudostigmatic organs at some length both from anterior and posterior setae of same side and from median seta; long and bearing about 7 barbs at distal half. Anterior eyes at level of pseudo-stigmatic organs; posterior eyes inconspicuous. Dorsal setae 28, humeral seta included (in engorged state 2:8:8:2:4:2:2). Ventral setae, included the two pairs between coxae I and III, 16 in number, in 8 pairs in engorged specimen. Anus in front of 7th pair.

Leg I — Coxa porous, with a long filamentous seta nearer posterior edge. Trochanter and basifemur with one seta. Telofemur, 5 filamentous setae. Genual, 4 filamentous and 2 simple setae. Tibia, 5 filamentous and 2 simple setae. Tarsus, about 11 filamentous and 6 simple setae.

II. Coxa porous, with a filamentous seta nearer posterior edge. Trochanter, 1 filamentous, long seta. Basifemur, 2 filamentous setae. Telofemur, 3 filamentous setae. Genual, 3 filamentous and 1 simple setae. Tibia, 5 filamentous and 2 simple setae. Tarsus, 7 filamentous and 2 simple setae.

III. Coxa porous, with 1 anterior, filamentous seta. Trochanter, 1 long, filamentous seta. Basifemur, 1 flamentous seta. Telofemur, 3 filamentous setae. Genual 2 filamentous and 2 simple, setae. Tibia, 5 filamentous and 1 simple setae. Tarsus 8 filamentous, 1 long, simple setae.

*Holotype* — Engorged specimen, collected on *Homo sapiens* at the Instituto Butantan, S. Paulo, Brazil, in February 1932, mounted on type slide, in the collection of the Instituto Butantan.

(Trabalhos da secção de Protozoologia e Parasitologia do Instituto Butantan, tendo sido os de n. II, III e IV apresentados á Semana de Laboratorio, Soc. Med. & Cirurgia, São Paulo, janeiro de 1932 e os restantes, ultimados em março de 1932).

616.968.5

# NOTAS DE ACAREOLOGIA

## VI. Duas novas especies de larvas do genero *Trombicula: Trombicula ophidica*, sp. n. e *Trombicula ewingi*, sp. n. *(Acarina, Trombidiidae)*; nota sobre *Trombicula butantanensis* Fl. da Fonseca, 1932 e sobre a inexistencia de *T. akamushi* (Brumpt, 1910) entre nós.

POR

FLAVIO DA FONSECA

Em consequencia de pesquisas systematicas em ophidios recebidos pelo Instituto Butantan, tivemos opportunidade de capturar muitos lotes de larvas de *Acarina* do genero *Trombicula*, as quaes puderam ser determinadas como pertencentes a 3 especies perfeitamente definidas, sendo uma dellas *Trombicula butantanensis* Fl. da Fonseca, 1932, descripta neste volume das Memorias, e novas as duas restantes.

Devido á facilidade de manejo, por tratar-se de ophidio não venenoso, e á frequencia com que é remettido para o Instituto, limitámos a pesquisa systematica á especie *Ophis merremii* Wagler, 1824, da qual examinámos, de janeiro a junho de 1932, cerca de 150 exemplares, dos quaes 50 de procedencia ignorada e 100 que se distribuiam, por ordem de frequencia, pelos Estados de S. Paulo, Paraná, Matto Grosso, Minas Geraes, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catharina, Goyaz e Districto Federal.

Dos 150 exemplares examinados foram encontrados exemplares de *Trombicula* em 20, o que demonstra a frequencia do parasitismo na especie de ophidio considerada, não tendo sido encontrados parasitas nos exemplares de ophidios de Minas Geraes, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catharina e Districto Federal, o que provavelmente decorre do pequeno numero ($\pm$20) de individuos dessas proveniencias que puderam ser examinados.

a) Descripção de duas novas especies

### *Trombicula ophidica*, sp. n.

Esta especie é bem mais rara, a julgar pelo pequeno numero de vezes em que a encontrámos, do que a especie que descreveremos a seguir. Foi capturada em

exemplares de *Ophis merremii* Wagler, 1824 provenientes das localidades de Promissão e Mattão, no Estado de S. Paulo, encontrando-se menor numero de exemplares em cada cobra do que no caso das outras 2 especies parasitas de ophidios e por nós descriptas.

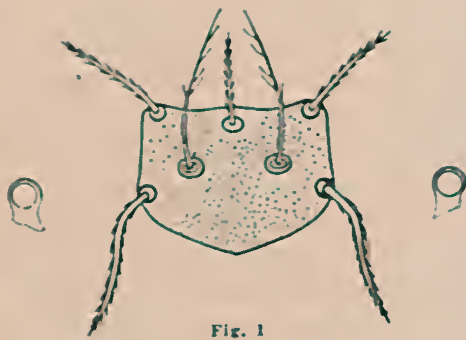
*Côr em vida* — Vermelha intensa.

*Dimensões de exemplares repletos* — Muito variavel, podendo attingir nos exemplares montados 530 *micra* de comprimento e 320 *micra* e provavelmente mais ao nivel do III par de patas.

*Palpos* — 1.ª cerda palpal (art. 1+2) dorsal externa, basal, com 3-5 filamentos. 2.ª cerda palpal (art. 3) dorsal externa, com cerca de 2-4 filamentos mais ou menos medianos. 4.º articulo palpal com uma cerda ventral, basal, com 1-2 filamentos e 2 cerdas núas apicilares, int. e ext. 5º articulo ou appendice não attingindo o apice das garras do palpo, com cerca de 7 cerdas, das quaes 2 lisas. Garra dos palpos bifurcada, com ramos sub-eguaes.

Cheliceras com um dente dorsal e um ventral, menor, apicilar. Collar rostral com 1 cerda núa.

*Face dorsal* — Escudo com largura pouco maior do que o comprimento maximo, apresentando o bordo anterior duas ligeiras concavidades, os bordos lateraes quasi rectos e o bordo posterior com forte convexidade mais ou menos uniforme em toda extensão. A porosidade é rara atrás dos pseudo-estigmas e quasi ausente em torno da cerda mediana anterior do escudo. A largura, medida no bordo anterior, é um pouco maior do que o comprimento, medido na altura da cerda mediana anterior. Das cerdas são mais longas as posteriores, seguindo-se as anteriores e por fim a mediana; todas são providas de numerosos filamentos muito curtos, que lhes conferem aspecto de uma espiga de trigo. Os pseudo-estigmas ficam situados mais proximos das cerdas posteriores e mais afastados da cerda mediana. Os organs pseudo-estigmaticos apresentam na metade distal cerca de 5 filamentos (Fig. 1).


Fig. 1

Os olhos anteriores, bem visiveis, ficam na altura dos pseudo-estigmas.

Os olhos posteriores não são visiveis ou são pouco nitidos.

As cerdas dorsaes, incluidas as humeraes e excluidas as do escudo, são 22, assim distribuidas: um par humeral, duas series de 6 dispostas em V invertido, de braços bem abertos, um novo par, 4 em linha, formando um par mediano e um externo e finalmente um par posterior, sendo, portanto, a formula —

2:6:6:2:4:2. As cerdas apresentam o mesmo aspecto descripto para as cerdas do escudo, oscillando suas dimensões entre 20-35 *micra* mais ou menos, sendo de um modo geral mais curtas do que as de *Trombicula butantanensis*.

*Face ventral* — As cerdas ventraes são 20, incluidas as existentes entre o I e o III pares de patas, dispondo-se aos pares. São mais curtas do que as dorsaes e apresentam o mesmo aspecto.

*Patas* — *I par*. Coxa porosa com cerda filamentosa de situação posterior. Trochantéres com 1 cerda filamentosa. Basifemur, idem. Telofemur, 4, idem. Genual, 4 filamentosas e 2-3 lisas. Tibia com 6-8 filamentosas e 2-3 lisas. Tarso com ± 15 filamentosas, 1-2 lisas e um forte espinho. *II par*. Coxa porosa com cerda filamentosa de situação post. Trochanter com 1 cerda filamentosa. Basifemur com 2 cerdas filamentosas. Telofemur com 4 cerdas filamentosas. Genual com 3 cerdas filamentosas e 1 lisa. Tibia com 6 filamentosas e 2 lisas. Tarso com ± 12 filamentosas e um espinho forte, mais curto que o do tarso I. *III par*. Coxa porosa com cerda filamentosa anterior. Trochanter com 1 cerda filamentosa. Basifemur com 1-2 cerdas filamentosas. Telofemur com 2-3 cerdas filamentosas. Genual com 3 filamentosas e 1 lisa. Tibia com 6 filamentosas e 1 lisa. Tarso com ± 10-12 cerdas filamentosas.

Descripção baseada em 2 cotypos capturados a 19/V/32 sobre um exemplar de *Ophis merremii* Wagler, 1824 proveniente de Promissão, Estado de S. Paulo, montados em laminas numeradas 38 e 39, na collecção do Instituto Butantan. Cotypos montados na mesma collecção. Metatypos de Mattão, Estado de S. Paulo, na mesma collecção.

## *Trombicula ewingi*, sp. n.

Esta especie é, sem duvida, a encontrada com maior frequencia parasitando ophidios e tambem a mais abundante em uma mesma cobra parasitada, pelo menos entre nós.

Os primeiros exemplares capturados provinham de Correntes, Matto Grosso, tendo sido verificado posteriormente occorrer com frequencia na zona Noroeste do Estado de S. Paulo, bem como nos estados do Paraná e Goyaz.

Trata-se de especie muito caracteristica, differindo totalmente de todas as restantes especies do genero conhecidas, pelo facto de as cerdas antero-lateraes do escudo serem representadas por elementos extremamente curtos e desmesuradamente largos, ligeiramente espatulados, nús e de extremidade livre franjada, o que torna a especie reconhecivel á primeira vista.

Ao contrario da *Trombicula butantanensis* que pode parasitar o homem, esta especie recusou fixar-se sobre o auctor em uma tentativa feita com o fim de verificar si poderia tambem parasitar o homem, sendo possivel que se trate

da especie adaptada ao parasitismo exclusivo de ophidios ou, pelo menos, de animaes de sangue frio.

*Descripção das larvas em estado de repleção:*

*Côr* — Branca ligeiramente amarellada.

*Dimensões das larvas repletas* — Muito variaveis, podendo attingir até 600 *micra* de comprimento por 400 *micra* de largura ao nivel do III par de patas.

*Palpos* — 1.ª cerda palpal (articulo 1+2) dorsal externa, relativamente curta, filamentosa desde a base, com cerca de 5 filamentos dispostos dos dois lados. 2.ª cerda palpal (articulo 3) dorsal mediana, núa. 4° articulo com cerda ventral externa, basilar, lisa e 2 cerdas apicilares, lisas, dorsal interna e dorsal externa, esta menor. Appendice (articulo 5) não attingindo os ramos da garra do palpo, com cerca de 7 cerdas, das quaes 2 são lisas. Garra do palpo trifurcada, com ramos sub-eguaes.

Chelicera com dente dorsal e dente ventral, este muito menor e mais apicilar.

Collar rostral com cerda núa.

*Face dorsal* — Escudo dorsal mais largo do que longo, bordo anterior com dupla concavidade nitida, bordos lateraes de concavidade pouco pronunciada e bordo posterior fortemente convexo. Porosidade faltando ao nivel da cerda media e rareando atrás dos pseudo-estigmas. Duas manchas alongadas no sentido transversal, mais ou menos triangulares, entre as cerdas antero-lateraes e o bordo anterior. Cerdas antero-lateraes constituindo a formação mais caracteristica da especie, truncadas, lisas, de extremidades franjadas, cujo comprimento é de cerca de 14 *micra* por uma largura cerca de 3,5 *micra*, dirigidas para trás, com o apice apenas alcançando os pseudo-estigmas, com implantação muito para dentro dos bordos e do angulo antero-externo. Cerdas posteriores implantadas nos angulos postero-externos, longas, com cerca de 45 *micra*, com pillosidade curta em toda extensão. Cerda mediana anterior implantada atrás do bordo anterior, com cerca de 38 *micra*, com pillosidade curta em toda extensão. Organs pseudo-estigmaticos longos, com 9 filamentos nos 2/3 distaes (Fig. 2).


Fig. 2

Olhos anteriores e posteriores invisiveis.

Cerdas dorsaes, inclusive as humeraes, em numero de 22, dispostas segundo a formula: 2:6:6:2:4:2, sendo as duas series de 6 formadas por 2 ramos obliquos para baixo, tal como as hastes de um V invertido e a serie de 4 em uma linha, formada por um par mais ou menos mediano e um externo.

*Face ventral* — Cerdas ventraes 16, inclusive os dois pares entre as coxas I e III, mais ou menos segundo a formula: 2:2:2:4:2:2:2 (em exemplares repletos).

*Patas* — *I par* — Coxa ponteaguda, porosa, com 1 cerda filamentosa de situação distal e mediana. Trochanter com 1 cerda filamentosa. Basifemur com 1 cerda filamentosa. Telofemur com 5 cerdas filamentosas. Genual com 4 cerdas filamentosas e 3 lisas. Tibia com 8 cerdas filamentosas e 1 lisa. Tarso com $\pm$ 15 cerdas filamentosas, 1 núa e um grande espinho. *II par* — Coxa alongada, de extremidade proximal arredondada, com cerda filamentosa distal e mediana. Trochanter com 1 longa cerda filamentosa. Basifemur com 2 cerdas filamensas. Telofemur com 5 cerdas filamentosas. Genual com 4 cerdas filamentosas. Tibia com 6 cerdas filamentosas e 2 lisas. Tarso com $\pm$ 15 cerdas filamentosas e 1 espinho mais curto que o do tarso I. *III par* — Coxa porosa, com cerda filamentosa de situação mais basilar e anterior. Trochanter com 1 cerda filamentosa. Basifemur com 2 cerdas filamentosas. Telofemur com 3 cerdas filamentosas. Genual com 3 cerdas filamentosas e uma lisa. Tarso com $\pm$ 15 cerdas filamentosas.

Descripção baseada em varios cotypos capturados pelo auctor sobre *Ophis merremii* Wagler, 1824, ophidio conhecido vulgarmente por Boipeva, exemplares remettidos ao Instituto Butantan de Correntes, Estado de Matto Grosso. Cotypos e topotypos na collecção do Instituto Butantan montados em laminas ou conservados em alcool. Metatypos de varias localidades: Pennapolis, Sylvania, Promissão, Biriguy, Guatapará, Mattão e Jacaré, em São Paulo; Morrinhos, em Goyaz; Rio Negro, no Paraná; de Quiteriozinho, em Matto Grosso, todos na mesma collecção.

A especie é dedicada ao notavel acareologista, H. E. Ewing, auctor de valiosos trabalhos sobre *Trombiculinae*.

b) Nota sobre *Trombicula butantanensis* Fl. da Fonseca, 1932.

Em trabalho anterior descrevemos, em collaboração com J. B. Arantes, uma especie de Trombicula que fôra por este capturada fixada á sua perna. Procurando saber como adquiriu este parasitismo, deduzimos serem as larvas provavelmente oriundas do serpentario do Instituto, pois sabiamos serem as *Trombicula* tambem parasitas de ophidios e batrachios, animaes estes que frequentemente eram manipulados por aquelle nosso collega. Por ser a Boipeva, *Ophis merremii* Wagler, 1824 a serpente com que o nosso collega mais frequentemente lidava em suas pesquisas, foi para esta especie que o auctor logo dirigiu a attenção, tendo visto confirmada sua previsão, capturando sobre esses ophidios numerosos lotes de *Trombicula*, as quaes puderam ser dividas em 3 especies: *Trombicula ophidica*, *Trombicula ewingi* e finalmente *Trombicula butantanensis* Fl. da Fonseca. Esta ultima especie foi primeiro capturada sobre um exemplar de *Ophis merremii* de proveniencia incerta, de S. Paulo ou Rio Grande do Sul, e mais tarde sobre *Ophis merremii* proveniente de Correntes, no Estado de Matto Grosso.

c) Nota sobre a inexistencia de *Trombicula akamushi* (Brumpt, 1910) entre nós.

Estava escripto este trabalho quando verifiquei haver o dr. Amadeu Fialho publicado, *in* Revista Medico-Cirurgica do Brasil XL(7), Julho 1932, em seu relatorio sobre "Tifo exantematico de São Paulo", que "o dr. Flavio da Fonseca acaba de identificar em São Paulo um exemplar de *Trombicula akamushi*, o transmissor da febre fluvial do Japão, o Tsutsugamushi, etc.". Rectificando o engano do distincto collega, cumpre-me declarar que jamais me passou pela mente filiar áquella especie o Trombiculineo que encontrámos parasitando o homem entre nós. Effectivamente, já em janeiro do corrente anno a especie em apreço fôra descripta como *T. butantanensis*, sp. n., resultando, pois, que o sobredito engano, por parte de A. Fialho, provém de simples confusão dessa especie com o genero, por lhe haver eu dado, verbalmente, conhecimento do encontro de uma *Trombicula* em nosso meio.

## ABSTRACT

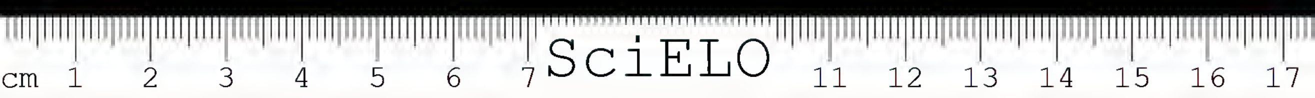
*Trombicula ophidica* and *T. ewingi* are described as species new to science and some remarks made on the host of *Trombicula butantanensis* Fonseca et Arantes. *Trombicula ophidica*, sp. n., may be characterized thus: *Colour*-bright red. *Size of engorged specimens* — 530 *micra* × 320 *micra* and probably more at the level of the III pair of legs. *Palpi* — 1st palpal seta (art. 1+2) dorsal, external, with 2-4 more or less median barbs; setae on 4th article one ventral external, basal, with 1-2 barbs and two simple, apical setae; 5th article not reaching the apex of palpal claws and bearing about 5 filamentous and 2 simple setae. Palpal claws bifurcate with sub-egual prongs. Chelicerae with one dorsal tooth and one ventral smaller and more apical. Seta on chela simple. *Dorsum* — Dorsal shield porous, a little wider than long; anterior margin with a double concavity, lateral margins nearly straight and posterior margin strongly and about uniformly convex. Posterior setae longest, anterior ones medium-sized, median seta smallest. All setae provided with very short barbs. Pseudostigmata nearer the posterior and the anterior setae than the median one. Pseudostigmatic organs with 5 barbs at distal half (Fig. 1). Anterior eyes at the level of pseudostigmata; posterior ones not visible. Dorsal setae 22, humeral included and those of the dorsal shield excluded; arranged in the following series 2:6:6:2:4:2. Ventral setae 20, paired, including two pairs between coxae I and III. *Legs* — I pair: Coxa porous with a filamentous posterior seta. Trochanter and basifemur with a filamentous seta. Telofemur, 4 filamentous setae. Genual, 4 filamentous and 2-3 simple setae. Tibia, 6-8 filamentous and 2-3 simple setae. Tarsus with ± 15 filamentous and 1-2 simple setae and a strong spine. II pair: Coxa porous with a filamentous posterior set. Trochanter, 1 filamentous seta. Basifemur, 2 filamentous setae. Telofemur, 4 filamentous and 2 simple setae. Tarsus with

± 12 filamentous setae and a strong spine, shorter that of tarsus I. III pair: Coxa porous, with a filamentous anterior seta. Basifemur, 1-2 filamentous setae. Telofemur, 2-3 filamentous seta. Tibia, 6 filamentous and 1 simple setae. Tarsus with ± 10-12 filamentous setae. Description based on 2 cotypes captured on *Ophis merremii* Wagler, 1824 from Promissão, S. Paulo (N. 38 and 39 in the collection of the I. Butantan. Cotypes mounted and in alcool in the same collection. Metatypes from Mattão, State of S. Paulo, all in same collection.

*Trombicula ewingi*, sp. n., may be characterized thus: *Colour* — yellowish white. *Size of engorged specimens* — very variable, up to 600 *micra* of length by 400 *micra* of width at the level of pair III of legs. *Palpi* — 1st palpal seta (art. 1 + 2) dorsal external, relatively short, filamentous from basis, with about 5 lateral barbs; 2nd palpal seta (art. 3) dorsal median, simple; setae on 4th art. all simple, one ventral external, basal and two apical; internal dorsal and external dorsal, the latter smaller. Art. 5 not reaching prongs of palpal claws and bearing 5 filamentous and 2 simple setae. Palpal claws trifurcate with subegual prongs. Chelicerae with one dorsal tooth and one ventral much smaller and more apical. Seta on chela simple. *Dorsum* — Shield porous, wider than long; anterior margin with a double nitid concavity, lateral slightly concave and posterior strongly convex. Antero-lateral setae very characteristically reduced to 2 naked, wavily margined distally, truncate setae, 14 *micra* long and 3,5 *micra* wide, turned backwardly, apex reaching but pseudostigmata. Mediam seta behind anterior margin, about 38 *micra* long; postero-lateral setae at posterior corners, about 45 *micra* long. Pseudostigmatic organs long, with 5 barbs at distal 2/3 (Fig. 2). Eyes, anterior and posterior, not visible. Dorsal setae 22, humerals included, arranged in the following series: 2:6:6:2:4:2. Ventral setae 16, including 2 pairs between coxae I and III. *Legs* — I pair: Coxa porous, with a distal and median seta. Trochanter and basifemur, 1 filamentous seta. Telofemur, 5 filamentous setae. Genual, 4 filamentous and 3 simple setae. Tibia, 8 filamentous and 1 simple setae. Tarsus with ± 15 filamentous and 1 simple setae and 1 large spine. II pair: Coxa elongated, with a distal and median filamentous seta. Trochanter with 1 and basifemur with 2, filamentous setae. Telofemur, 5 filamentous setae. Tarsus with ± 15 filamentous setae and 1 spine shorter than that of tarsus I. III pair: Coxa quadrangular, porous, with a rather basal and anterior seta. Trochanter with 1 and basifemur with 2, filamentous setae. Telofemur, 3 filamentous setae. Genual, 3 filamentous and 1 simple setae. Tarsus with ± 15 filamentous setae.

Description based on several cotypes captured by the author on many specimens of the aglyph "Boipeva" snake (*Ophis merremii*), sent to the Instituto Butantan from Correntes, state of Matto Grosso. Cotypes and topotypes in the I. Butantan collection, all mounted on slides or preserved in alcohol. Metatypes from several other localities such as Pennapolis, Sylvania, Promissão, Biriguy,





Mattão and Jacaré, State of São Paulo; Morrinhos, State of Goyaz; Rio Negro, State of Paraná; Quiteriozinho, State of Matto Grosso, all in the same collection.

The present species is named after the distinguisted acareologist, H. E. Ewing, author of important papers on *Trombiculinae*.

*Note*: — *T. ewingi* is certainly the commonest and the most abundant of all species found on snakes in this region. It is a very characteristic species as it differs very deeply from any of its genus in its shield, bearing antero-lateral setae extremely short and wide, slightly spatulated and simple, their free end being wavy.

Contrary to *T. butantanensis* that may parasite the man, *T. ewingi* refused to feed on the author at an attempt made to learn of its habits. It seems rather to be adapted exclusively to feeding on snakes or at least on poecilothermic animals.

*Trombicula butantanensis* as described in collaboration with J. B. Arantes elsewhere in this issue, was found on a man. Seeking an explanation for this parasitism, the author foresaw the larvae might had come from some snake or batrachian taken from the snake garden of the Instituto Butantan. Since *Ophis merremii* Wagler, 1824 was the snake most frequently handled by the parasited person, it was the first species to be submitted to examination, numerous lots of *Trombicula*, of the species described in this paper, having been obtained from specimens of it. *T. butatanensis* was first found upon a "Boipeva" snake probably from S. Paulo and afterwards upon another specimen of it from Correntes, Matto Grosso.

In his report on (Tifo exantematico de S. Paulo), published *in* Rev. Med. Cirurgica Brasil XL(7), July 1932, A. Fialho stated that I had found in S. Paulo a specimen of *T. akamushi*, the carrier of Tsutsugamushi disease. This mistake must be corrected as I have never thought of identifying with that species the example of *Trombidiidae* captured by us (J. B. Arantes and I) on a man. As a matter of fact, the specimen in question had already been recognized as a new species (*T. butantanensis* Fl. da Fonseca), so that Fialho's information may only be interpreted as a confusion.

(Trabalho da Secção de Protozoologia e Parasitologia do Instituto Butantan, setembro de 1932).

# UM GENERO NOVO E ALGUMAS ESPECIES DE SARCOPHAGAS (DIPTERA, STEPHANOSTOMATIDAE) DA CIDADE DE S. PAULO

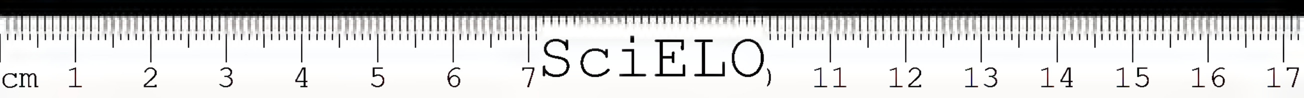
POR

ALCIDES PRADO E FLAVIO DA FONSECA

---

*(com 8 gravuras no texto)*

---


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

595.772

# UM GENERO NOVO E ALGUMAS ESPECIES DE SARCOPHAGAS (DIPTERA, STEPHANOSTOMATIDAE) DA CIDADE DE S. PAULO

POR

ALCIDES PRADO E FLAVIO DA FONSECA

---

## *Oxysarcodexia amarali* PRADO & FONSECA

*Macho.* — Fronte mede 0mm09; parafrontaes e parafaciaes amarello-doiradas, densamente pollinosas, com pêlos curtos ao rebordo orbitario; frontaes em numero de onze, divergentes em cima, proximo ao vertice e em baixo, á altura dos primeiros segmentos da antenna; interno-verticaes presentes; ocellares presentes; antennas negras, com a 3.ª junta duas vezes e meia mais longa do que a 2.ª, attingindo a 4/5 da distancia das vibrissas; aristas longo-plumosas nos 2/3 basaes; vibrissas pouco acima da margem oral; proboscida e palpos negros, estes ultimos espatulados e ligeiramente curvos para cima; bochechas amarello-doiradas com numerosos pêlos; parte posterior da cabeça com duas fileiras de pêlos negros e pêlos brancos e negros esparsos, abaixo.

Thorax cinzento, pollinoso, com tres faixas negras longitudinaes; acr. ant. ausentes; dc. ant. pouco differenciadas; acr. post. uma; dc. post. duas anteriores reduzidas e duas posteriores bem desenvolvidas; stpl. duas, sendo uma anterior e outra posterior; marg. duas; sap. uma; ap. uma.

Abdome cinzento, pollinoso, tesselado, com nitidas faixas negras longitudinaes; 1.º, 2.º e 3.º segmentos, cada um, com duas cerdas lateraes, sendo que no ultimo se nota um par mediano e marginal; 4.º segmento com uma serie de mais de dez cerdas marginaes; 5.º esternito em forma de V, pouco visivel.

*Hypopygio* (fig. 1). — 1.º segmento amarello com finos pêlos e uma serie de cerca de oito cerdas; 2.º segmento da mesma côr, globoso, com pêlos disseminados; forceps amarellados na base, chitinizados no apice, onde se dilatam em forma de cabeça de prego; placas accessorias amarelladas, um tanto qua-

drangulares, com seu angulo anterior mais agudo e o posterior pouco nitido, rombo; clasperes posteriores chitinizados, afilando-se e encurvando-se progressivamente em angulo recto; clasperes anteriores mais largos do que os posteriores, menos chitinizados e fortemente escavados; penis claro e delgado na parte basal, terminando por duas expansões apicilares arredondadas de aspecto complicado, onde se percebe uma lamina denteada e uma placa em que se inserem espinhos curtos e fortes.

Pernas negras em geral; coxas e femores levemente acinzentados; femores medios com um curto pente proximo ao apice; tibias posteriores sem villosidades.

Azas hyalinas; espathicula (epaulet) negra; basicosta amarello-alaranjada; 1.ª nervura longitudinal núa; 3.ª nervura longitudinal com dez cerdas basaes na parte dorsal da aza e com um numero menor na parte ventral.

*Femea.* — Fronte com 0mm20; colorido geral mais ou menos semelhante ao do macho; abdome mais claro e mais largo; externo-verticaes e orbitaes presentes.

Esta especie é affim de *bakeri*, de Aldrich.

Comprimento do macho e da femea: 8mm50.

Holotypo e allotypo, macho e femea, na collecção do Instituto Butantan. Paratypos em numero de sete. Hypopygio montado de um cotypo. Todos os exemplares foram obtidos de uma só cultura.

O nome desta especie é dado em homenagem ao dr. Afranio do Amaral, director do Instituto Butantan e que em nosso meio é um dos incentores desses estudos.

## *Ctenoprosballia florencioi* Prado & Fonseca

*Macho.* — Largura da fronte 0mm31; parafrontaes e parafaciaes amarello-doiradas, pollinosas, com uma fileira de pequenos pêlos ao rebordo orbitario; frontaes em numero de doze, ligeiramente divergentes em cima, proximo ao vertice, e em baixo, ao nivel dos primeiros segmentos da antenna; interno-verticaes presentes; ocellares presentes; vibrissas pouco acima da margem oral; antennas negras, 3.ª junta cerca de tres vezes mais longa do que a 2.ª, attingindo 4/5 da distancia das vibrissas; aristas longo-plumosas nos seus 2/3 basilares; proboscida e palpos negros, estes ultimos espatulados e levemente encurvados para dentro; bochechas amarello-doiradas, pollinosas, revestidas de pêlos negros; parte posterior da cabeça, com duas fileiras de pêlos negros e outras, mais abaixo, constituidas de pêlos branco-amarellados.

Thorax amarello, pollinoso, com 3 faixas negras longitudinaes, sendo a mediana estreitada na frente; acr. ant. invisiveis; dc. ant. reduzidas; acr. post. uma;

dc. post. duas bem desenvolvidas e uma reduzida; stpl. duas anteriores e uma posterior; marg. tres; sap. reduzidas; ap. uma.

Abdome cinza-amarellado, tesselado, com uma lista negra mediana e as lateraes interrompidas; 1.°, 2.° e 3.° segmentos, cada um, com duas longas cerdas lateraes, sendo que nesse ultimo se notam mais duas cerdas marginaes, medianas; 4.° segmento com uma fileira de onze cerdas de tamanhos variaveis; 5.° esternito em V, retrahido.

*Hypopygio* (fig. 2). — 1.° segmento amarello-alaranjado, com pêlos numerosos; 2.° segmento da mesma côr, globoso, tambem com pêlos negros, alguns dos quaes bem longos; forceps chitinizados e terminados em ponta curva, notando-se em sua borda superior pêlos innumeros e em sua borba inferior um pente com quatro espinhos longos e fortes; placas accessorias amarello-escuras, claviformes; clasperes posteriores egualmente chitinizados, alongados e terminados em ponta; clasperes anteriores, digitiformes; penis amarello-pallido, delgado na base, e dilatado e semigloboso depois, para terminar com duas pontas delicadas.

Pernas negras; femores medios com um pente na porção apicilar; tibias posteriores sem villosidades. Azas hyalinas; espathicula negra; basicosta amarella; 1.ª nervura longitudinal núa; 3.ª nervura longitudinal com nove pêlos na parte dorsal da aza e com seis na parte ventral.

*Femea.* — Fronte com 0mm41; colorido semelhante ao do macho; externo-verticaes e orbitaes presentes, estas ultimas em numero de tres.

Esta especie é affim de *parallela*, de Aldrich.

*Comprimento* do macho e da femea: 10mm..

Holotypo e allotypo, macho e femea, na collecção do Instituto Butantan. Paratypos em numero de sete. Hypopygio montado de um cotypo.

Todos os exemplares foram obtidos de uma só cultura.

O nome desta especie é dedicado á memoria do dr. João Florencio Gomes, saudoso assistente do Instituto Butantan e primeiro organizador da collecção entomologica do Instituto.

## *Sarcodexia butantani* (PRADO & FONSECA)

*Macho.* — Fronte mede 0mm15; parafrontaes e parafaciaes amarellas, pollinosas, com reflexos prateados, e com uma orla de pêlos ao rebordo orbitario; frontaes em numero de onze, divergentes, em cima, proximo ao vertice, e em baixo, á altura da lunula; interno-verticaes presentes; ocellares presentes; antennas cinza-negras, 3.ª junta cerca de duas vezes mais longa do que a 2.ª, attingindo a 4/5 da distancia das vibrissas; aristas longo-plumosas nos seus 2/3 basilares; vibrissas ao nivel da margem oral; proboscida e palpos negros, estes ultimos espatulados e encurvados para cima; bochechas amarello-prateadas, com numerosos pêlos curtos; parte posterior da cabeça amarellada, com duas distin-

ctas fileiras de pêlos negros e outras indistinctas, abaixo, constituidas por pêlos branco-pallidos.

Thorax amarello-pallido, pollinoso, com tres conspicuas faixas negras longitudinaes, sendo a mediana sensivelmente estreitada anteriormente; acr. ant. uma; dc. ant. tres; acr. post. uma; dc. post. tres; stpl. duas anteriores e uma posterior; marg. duas; sap. uma; ap. uma.

Abdome amarello-acinzentado, tesselado, com uma faixa longitudinal negra e mediana e duas outras da mesma cor, submedianas, sobre os tres primeiros segmentos; leves faixas negro-transversaes á união dos segmentos; 1.°, 2.° e 3.° segmentos, cada um, com duas cerdas lateraes, sendo que no ultimo citado se notam cerca de oito marginaes; 4.° segmento com onze cerdas marginaes; 5.° esternito em forma de V, pequeno, pouco visivel.

*Hypopygio* (fig. 3). — 1.° segmento pardo-amarellado com pêlos curtos e raros; 2.° segmento amarello-alaranjado, com pêlos longos; forceps amarellados, pouco chitinizados, largos, com a extremidade dobrada em angulo recto e um espinho terminal; placas accessorias pequenas, rectangulares, implantando-se nellas numerosos pêlos longos; clasperes posteriores chitinizados, digitiformes; clasperes anteriores, menos chinitizados, finos e curvos; penis amarello-claro, com sua porção mediana e terminal dilatada, de estructura complexa, onde sobresaem varias pontas curvas.

Pernas negras, com excepção das coxas e femores anteriores que têm a sua parte externa cinza-clara; tibias medias com duas grandes cerdas externo-medianas; tibias posteriores sem villosidades.

Azas hyalinas; espathicula negra; basicosta branco-perola; 1.ª nervura longitudinal núa; 3.ª nervura longitudinal com sete pêlos basilares na parte dorsal da aza e apenas dois na parte ventral.

*Femea*. — Fronte com 0mm36; de colorido semelhante ao do macho, apenas com o abdome mais largo e arredondado; externo-verticaes presentes; orbitaes tambem presentes.

Esta especie é affim de *rudis*, de Aldrich.

*Comprimento* do macho: 9mm; da femea: 10mm.

Holotypo e allotypo, macho e femea, na collecção do Instituto Butantan. Hypopygio montado de um cotypo. Paratypos em numero de tres. Todos os exemplares foram obtidos de uma unica cultura.

### *Oxysarcodexia neotropicalis* PRADO & FONSECA

*Macho*. — Fronte mede 0mm13; parafrontaes e parafaciaes amarello-doiradas, pollinosas, com uma orla de pêlos curtos ao redor das orbitas; frontaes em numero de dez, levemente divergentes em cima, ao vertice, e em baixo, á

altura da 2.ª junta antennal; interno-verticaes presentes; ocellares curtas; antennas cinza-negras, com a 3.ª junta quasi tres vezes mais longa do que a 2.ª, attingindo a 4/5 da distancia das vibrissas; aristas longo-plumosas nos seus 2/3 basilares; vibrissas pouco acima da margem oral; proboscida e palpos negros, estes espatulados e curvos; bochechas amarello-doiradas, revestidas de pêlos negros; parte posterior da cabeça cinza com reflexos escuros e com tres fileiras distinctas de pêlos negros e outras, indistinctas, de pêlos branco-pallidos, abaixo.

Thorax cinza-claro, com tres faixas negras, longitudinaes; acr. ant. não differenciadas; dc. ant. reduzidas; acr. post. uma; dc. post. duas anteriores reduzidas e duas posteriores bem nitidas; stpl. duas anteriores e uma posterior; marg. duas; sap. uma; ap. inconspicua.

Abdome cinza, pollinoso, tesselado, com tres faixas negras longitudinaes, sendo uma mediana e duas submedianas, estas ultimas sobre os tres primeiros segmentos; 4.° segmento inteiramente amarello-doirado; 1.°, 2.° e 3.° segmentos, cada um, com duas cerdas lateraes, sendo que no 3.° se notam ainda duas mediano-marginaes; 4.° segmento com numerosas cerdas marginaes; 5.° esternito em forma de V, pouco visivel.

*Hypopygio* (fig. 4). — 1.° segmento amarello-doirado, pollinoso, brilhante, com uma serie de dez cerdas; 2.° segmento amarello-doirado, globoso, com muitos pêlos; forceps amarellos, chitinizados na ponta, sendo a base muito larga e a ponta estreita e arredondada; peças accessorias amarellas, quadrangulares e todo cheias de pêlos; clasperes posteriores curtos e estreitos, de margens parallelas com forte reintrancia na extremidade; clasperes anteriores largos, com uma tuberosidade na margem anterior e uma ponta na margem posterior; penis delgado na base e de estructura bastante complicada no apice, onde em seu contorno se nota uma denteação forte.

Pernas negras, com reflexos cinza na parte postero-inferior dos femores; tibias medias com numerosos pêlos ao lado interno e duas longas cerdas ao lado externo; tibias posteriores sem villosidades.

Azas hyalinas; espathicula negra; basicosta branco-perola; 1.ª nervura longitudinal núa; 3.ª nervura longitudinal com dez cerdas basilares no lado dorsal da aza e cerca de quatro no lado ventral.

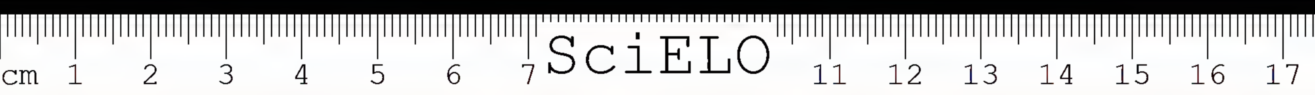
*Femea*. — Fronte mede 0mm13. Colorido semelhante ao do macho; externo-verticaes presentes; orbitaes presentes.

Esta especie é affim de *australis*, de Aldrich.

*Comprimento* do macho: 8mm; da femea: 9mm.

Holotypo e allotypo, macho e femea, pertencem á collecção do Instituto Butantan. Paratypos em numero de quatro. Hypopygio montado de um cotypo. Todos os exemplares foram obtidos de uma só cultura.





## *Chrysostomomyia townsendi* (Prado & Fonseca)

*Macho.* — Fronte mede 0mm33; parafrontaes e parafaciaes amarello-doiradas, pollinosas, ambas com duas fileiras de pêlos curtos ao redor das orbitas; frontaes em numero de treze, ligeiramente divergentes em cima e em baixo; interno-verticaes presentes; ocellares reduzidas; antennas cinza-negras, com a 3.ª junta tres vezes mais longa do que a 2.ª, attingindo a 4/5 da distancia das vibrissas; aristas plumosas nos seus 2/3 basilares; vibrissas pouco acima da margem oral; proboscida e palpos negros, estes ultimos espatulados e curvos; bochechas amarello-doiradas, pollinosas, com numerosos pêlos amarellados; parte posterior da cabeça amarello-doirada, com reflexos escuros, e com duas fileiras de pêlos negros e outras, abaixo, constituidas por pêlos branco-amarellados.

Thorax cinza, com tres faixas negras, longitudinaes e outras duas amarelladas, lateraes, do callo humeral ao callo prealar; acr. ant. e dc. ant. não desenvolvidas; acr. post. uma; dc. post. duas; stpl. uma anterior e outra posterior; marg. duas; sap. reduzidas; ap. uma.

Abdome cinza, tesselado, com uma faixa negra longitudinal e mediana, interrompida ao nivel do 4.° segmento, e as submedianas um tanto irregulares e indistinctas; 1.°, 2.° e 3.° segmentos, cada um, com duas cerdas lateraes, sendo que nesse ultimo se notam duas marginaes, medianas, espaçadas; 4.° segmento com uma serie de numerosas cerdas marginaes; 5.° esternito em forma de V, retrahido, pouco visivel.

*Hypopygio* (fig. 5) moderado, com o 1.° segmento amarello, pollinoso; 2.° segmento amarello-avermelhado, vitreo, revestido de pêlos esparsos; forceps negros, fortemente chitinizados, em forma de bico de passaro, com pêlos eriçados, curtos, em sua parte dorsal; placas accessorias amarelladas e arredondadas; clasperes posteriores pardo-escuros, chitinizados e curvos; clasperes anteriores amarellos, largos voltados para baixo; penis amarello-claro, expandido, partindo da sua porção superior dois filamentos em circulo, onde em sua parte interna se nota uma disposição em serrilha; porção inferior do penis com duas placas que terminam em gancho.

Pernas negras em geral, com a parte inferior dos femores anteriores acinzentada; femores medios e posteriores villosos em sua porção inferior.

Azas hyalinas; espathicula negra; basicosta amarella; 1.ª nervura longitudinal núa; 3.ª nervura longitudinal com uma serie de nove cerdas na parte dorsal da aza e de um numero mais ou menos egual na parte ventral.

*Femea.* — Fronte com 0mm50; colorido mais ou menos semelhante ao do macho, com o abdome mais arredondado e tufos de pêlos na sua parte terminal; externo-verticaes e orbitaes presentes.

Esta especie é affim de *chrysostoma,* de Wiedemann.

*Comprimento* do macho e da femea: 16mm.

Holotypo e allotypo, macho e femea, existem na collecção do Instituto Butantan. Paratypos em numero de sete. Hypopygio montado de um cotypo. Todos os exemplares foram obtidos de uma unica cultura.

O nome desta especie é dado em homenagem ao sabio entomologista Charles H. T. Townsend.

## *TOWNSENDMYIA*, gen. n.

Genotypo: ***T. argentea*** (PRADO & FONSECA)

*Townsendmyia*, gen. n., do qual *T. argentea*, é genotypo, distingue-se, segundo Townsend, das especies do genero *Bercaeopsis* TT., pela arista curto-plumosa apenas até á metade, inexistencia do par mediano marginal de macrochetas do 3.° segmento abdominal; differe das especies do genero *Hybopygia* Endl., pelas cerdas frontaes que descem abaixo da base das antennas e, ainda, pela ausencia de espinho costal.

### *Townsendmyia argentea* (PRADO & FONSECA)

*Macho.* — Fronte mede 0mm40; parafrontaes e parafaciaes prateadas, pollinosas, com reflexos escuros e com uma fileira de pêlos curtos ao redor das orbitas, alem de outros, esparsos; frontaes em numero de doze, muito divergentes, em baixo, ao nivel da 2.ª junta antennal; interno-verticaes presentes; ocellares presentes, curtas; facio-orbitaes tambem presentes; antennas quasi negras, 3.ª junta duas vezes mais longa do que a 2.ª, attingindo a 3/4 da distancia das vibrissas; aristas longo-plumosas na sua metade basilar; vibrissas um pouco acima da margem oral; proboscida e palpos negros, estes ultimos espatulados e curvos; bochechas, cinza-prateadas, revestidas de pêlos negros; parte posterior da cabeça cinza-prateada, com reflexos escuros, e com duas fileiras distinctas de pêlos negros e outras inferiores, indistinctas, de pêlos esbranquiçados.

Thorax cinza, pollinoso, com tres accentuadas faixas negras, longitudinaes; acr. ant. ausentes; dc. ant. indistinctas; acr. post. ausentes; dc. post. duas bem nitidas e outras duas reduzidas; stpl. duas anteriores e duas posteriores; marg. duas; sap. uma; ap. uma, muito longa.

Abdome cinza, pollinoso, tesselado, com uma faixa negra longitudinal, mediana, bem visivel e faixas submedianas indistinctas; 1.°, 2.° e 3.° segmentos, cada um, com duas cerdas lateraes, sendo que neste ultimo se nota uma serie de outras cerdas marginaes; 4.° segmento tambem com uma serie de cerdas marginaes.

*Hypopygio* (fig. 6). — 1.° segmento quasi negro, com uma serie de dez cerdas; 2.° segmento amarello-alaranjado, globoso, com pêlos esparsos; forceps,

amarellos na base e com o apice negro, apresentam uma forte excavação, em gotteira, para terminar em ponta curva; placas accessorias, amarelladas e digitiformes; clasperes posteriores, moderados, terminando em ponta curva e com uma cerda longa em sua porção mediana; clasperes anteriores, tambem moderados, terminando egualmente em ponta curva, porém, com um forte entalhe em sua parte anterior; penis, recto em sua metade basilar, dobra-se em angulo na outra metade, notando-se ainda, em sua parte anterior, um par de estyletes em serrilha e um filamento chitinizado, curvo.

Pernas negras; tibias posteriores villosas em cima.

Azas hyalinas; espathicula amarello-alaranjada; basicosta amarello-clara; 1.ª nervura longitudinal núa; 3.ª nervura longitudinal com uma serie de cerca de quinze pêlos na parte dorsal da aza e apenas cinco na parte ventral.

*Femea.* — Fronte mede 0mm50. Colorido semelhante ao do macho; externo-verticaes e orbitaes presentes.

Esta especie é affim de *haemorrhoidalis*, de Fallen.

*Comprimento* do macho e da femea: 13 mm..

Holotypo e allotypo, macho e femea, existem na collecção do Instituto Butantan. Paratypos em numero de dezenove. Hypopygio montado de um cotypo. Todos os exemplares foram obtidos de uma só cultura.

## *Euravinia belforti* Prado & Fonseca

*Macho.* — Fronte mede 0mm33; parafrontaes e parafaciaes amarello-doiradas, pollinosas, com reflexos cinzentos e com numerosos pêlos curtos, dispersos; frontaes em numero de doze, não divergentes em cima e ligeiramente divergentes em baixo; interno-verticaes presentes; orbital uma; ocellares presentes; antennas negras, 3.ª junta cerca de duas vezes mais longa do que a 2.ª, attingindo a 3/4 da distancia das vibrissas; aristas longo plumosas em sua metade basilar; vibrissas um pouco acima da margem oral; proboscida e palpos negros, estes ultimos espatulados e curvos; bochechas amarello-doiradas e revestidas de pêlos curtos; parte posterior da cabeça, amarello-prateada, com duas fileiras de pêlos negros e outras, mais abaixo, de pêlos pallido-esbranquiçados.

Thorax amarello-cinza, com tres distinctas faixas negras; acr. ant. indistinctas; dc. ant. tres; acr. post. uma; dc. post. quatro, sendo as duas anteriores reduzidas; stpl. tres, duas anteriores e uma posterior; marg. duas; sap. uma; ap. uma.

Abdome amarello-cinza, pollinoso, tesselado, com uma faixa negra longitudinal e duas submedianas, estreitas e bem distinctas; 1.º, 2.º e 3.º segmentos com cerdas lateraes, sendo que no ultimo se observam varias medianas; 4.º segmento com uma fileira de longas cerdas marginaes; 5.º esternito em forma de V, pouco visivel.

*Hypopygio* (fig. 7). — 1.° segmento amarello-doirado, pollinoso, com cinco distinctas cerdas; 2.° segmento da mesma côr, com alguns pêlos esparsos; forceps amarellos, chitinizados, com os lados rectos e pontudos; placas accessorias amarellas, pilosas, quadrangulares; clasperes posteriores amarello-escuros, chitinizados, curvos e com uma tuberosidade em sua parte anterior; clasperes anteriores, amarellos, longos, curvos e com a extremidade arredondada; penis amarello escuro, chitinizado, saliente, tendo na sua porção posterior uma placa com numerosos espinhos.

Pernas negras; femores medios com uma longa serie de cerdas em sua metade apicilar; tibias medias com longas cerdas em sua parte mediana, externa; tibias posteriores sem villosidades.

Azas hyalinas; espathicula amarella; basicosta amarello-pallida; 1.ª nervura longitudinal núa; 3.ª nervura longitudinal com cerca de treze pêlos basilares na parte dorsal da aza e apenas quatro ou cinco na parte ventral.

*Femea.* — Fronte com 0mm50. Colorido semelhante ao do macho; externo-verticaes e orbitaes presentes.

Esta especie é affim de *communis* var. *ochracea*, de Aldrich.

*Comprimento* do macho: 12mm; da femea: 11mm..

Holotypo e allotypo, macho e femea, na collecção do Instituto Butantan. Paratypos em numero de nove. Hypopygio montado de um cotypo. Todos os exemplares foram obtidos de uma só cultura.

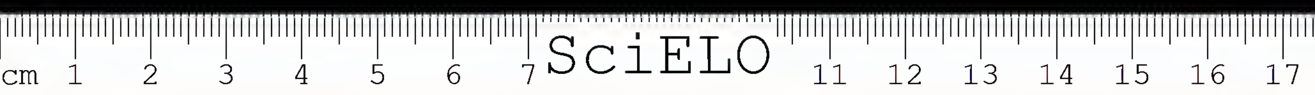
O nome desta especie é dado em homenagem ao dr. Waldemar Belfort Mattos, auctor de um importante estudo sobre as Sarcophagas de S. Paulo.

## ***Euboettcheria humeralis*** (PRADO & FONSECA)

*Macho.* — Fronte mede 0mm21; parafrontaes e parafaciaes amarello-doiradas, pollinosas, as primeiras com duas fileiras de pêlos negros não muito distinctas, as segundas apenas com uma fileira ao redor das orbitas; frontaes em numero de treze, um pouco divergentes em cima e em baixo; interno-verticaes presentes; ocellares reduzidas; antennas negras, 3.ª junta duas vezes mais longa do que a 2.ª, attingindo a 4/5 da distancia das vibrissas; aristas longo-plumosas nos 2/3 basilares; vibrissas pouco acima da margem oral; proboscida e palpos negros, estes ultimos espatulados e curvos; bochechas amarello-doiradas, pollinosas, com numerosos pêlos esparsos; parte posterior da cabeça, levemente doirada com duas fileiras distinctas de pêlos negros e outras inferiores de pêlos brancos.

Thorax cinza, com tres faixas negras longitudinaes; duas manchas amarello-doiradas lateraes: uma que se extende do callo humeral ao callo prealar e outra sobre a mesopleura; acr. ant. reduzidas; dc. ant. indistinctas; acr. post.





uma; dc. post. duas anteriores indistinctas e duas posteriores bem distinctas; stpl. uma anterior e outra posterior; marg. duas; sap. ausentes; ap. uma.

Abdome cinza, com reflexos amarellados, pollinoso, tesselado; 1.°, 2.° e 3.° segmentos, cada um, com duas cerdas lateraes, sendo que neste ultimo se nota um par mediano-marginal; 4.° segmento com uma fileira de longas cerdas marginaes; 5.° esternito em forma de V, pouco visivel.

*Hypopygio* (fig. 8). — 1.° segmento amarello-doirado, pollinoso, com algumas cerdas; 2.° segmento amarello-alaranjado, globoso, com numerosos pêlos esparsos; forceps longos, amarello-escuros, com ponta negra, curvos, em forma de cabeça de ganso, densamente revestidos de fortes espinhos; placas accessorias amarello-pardas, pilosas, mais ou menos triangulares; clasperes posteriores amarello-escuros, chitinizados, curtos, com a ponta em garra, trazendo em sua extremidade uma longa cerda; clasperes anteriores amarello-pardos, tambem chitinizados, largos, excavados em gotteira e com a ponta curva; penis amarello, chitinizado, com a base forte, donde sae um longo filamento curvo, tendo ainda em sua parte anterior dois estyletes, com uma especie de serrilha em cada ponta.

Pernas negras, em geral; femores anteriores com manchas cinzentas; tibias medias e posteriores densamente villosas em cima.

Azas hyalinas; espathicula negra; basicosta amarello-alaranjada; 1.ª nervura longitudinal núa; 3.ª nervura longitudinal com sete pêlos basilares na parte dorsal da aza e cerca de quatro ou cinco na parte ventral.

*Femea.* — Fronte mede 0mm41. Colorido semelhante ao do macho; externo-verticaes e orbitaes presentes.

Esta especie é affim de *cotyledonea*, de Aldrich.

*Comprimento* do macho e da femea: 13mm..

Holotypo e allotypo, macho e femea, na collecção do Instituto Butantan. Cotypo em numero de um, do qual foi montado o hypopygio. Todos os exemplares foram obtidos de uma cultura.

NOTA. Antes de redigirmos a descripção desta especie, procuramos, sem resultado, no Museu Paulista os paratypos de Sarcophagas estudados por Townsend, para o devido confronto. No decurso da impressão deste trabalho verificámos que H. de Souza Lopes (Bol. Biologico, 21:45.1932) os havia descoberto, tendo verificado que a nossa *E. humeralis* deve caber na synonymia de *E. australis* TT..

Desejamos, ao terminar, consignar aqui nossos agradecimentos ao distincto entomologista Charles H. T. Townsend, pelo valioso auxilio que nos prestou na confecção deste trabalho e extendemos os mesmos ao prof. Flaminio Favero, por nos haver cedido, para o necessario confronto, os cotypos de *paulistanensis*, de B. Mattos e *freirei*, de B. Mattos e o holotypo de *neivai*, de B. Mattos, exis-

tentes todos no Museu do Instituto de Medicina Legal Oscar Freire da Faculdade de Medicina de S. Paulo.

## ABSTRACT

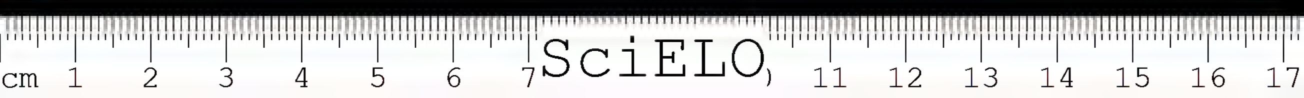
A comparative examination of several forms of Stephanostomatid flies, obtained from culture, based on their general morphology and especially on the characters of their terminalia has disclosed the following forms:

*Oxysarcodexia amarali* Prado & Fonseca; *Ctenoprosballia florencioi* P. & F.; *Sarcodexia butantani* (P. & F.); *Oxysarcodexia neotropicalis* P. & F.; *Chrysostomomyia townsendi* (P. & F.); *Townsendmyia*, g. n., *T. argentea* (P. & F.); *Euravinia belforti* P. & F.; *Euboettcheria humeralis* (P. & F.).

(Trabalho da Secção de Protozoologia e Parasitologia do Instituto Butantan, apresentado á Semana do Laboratorio, Soc. Med. & Cir. S. Paulo, Janeiro de 1932 e publicado, como nota previa, in Rev. Medico-Cirurgica Brasil XI (12): 35-39, 1932).






SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



Fig. 2
Hypopygio de Ctenosproballia florencioi P. & F.



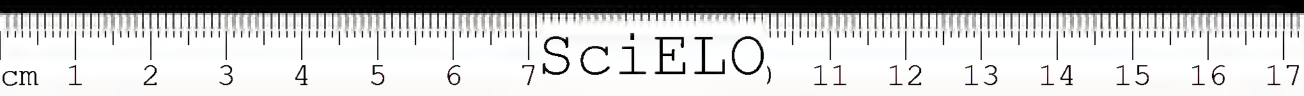
Fig. 4
Hypopygio de Oxysarcodexia neotropicalis P. & F.



Fig. 1
Hypopygio de Oxysarcodexia amarali P. & F.



Fig. 3
Hypopygio de Sarcodexia butantani (P. & F.)


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932



Fig. 6
Hypopygio de Townsendmyia argentea (P. & F.)



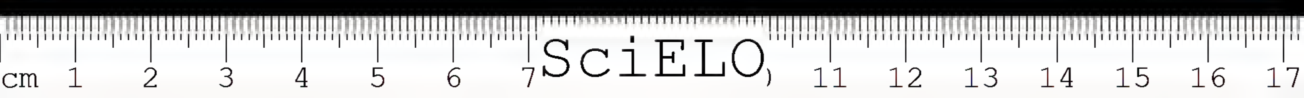
Fig. 8
Hypopygio de Euboettcheria humeralis (P. & F.)



Fig. 5
Hypopygio de Chrysostomomyia townsendi (P. & F.)



Fig. 7
Hypopygio de Euravinia belforti P. & F.


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17

# EIMERIA PINTOENSIS, sp. n., PARASITA DO COELHO SYLVESTRE (SYLVILAGUS MINENSIS)

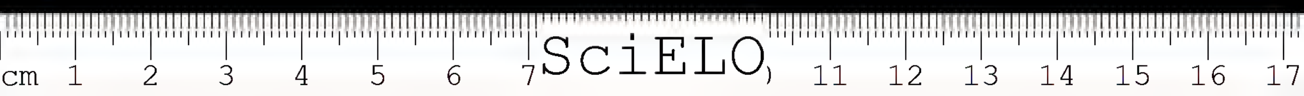
POR

FLAVIO DA FONSECA

---

*(com 2 gravuras no texto)*

---


SciELO

593.18

# EIMERIA PINTOENSIS, sp. n., PARASITA DO COELHO SYLVESTRE (SYLVILAGUS MINENSIS)

POR

FLAVIO DA FONSECA

---

Em um exemplar de coelho do matto (*Sylvilagus minensis*) capturado em Butantan, S. Paulo, encontrámos, ao exame das fezes, oocystos de uma Eimeridea, cujo estudo permitte distinguil-a das restantes especies até hoje descriptas como parasitas de coelhos, especies estas que são *Eimeria stidæ* (Lindemann, 1865), a eimeridea do figado, *Eimeria perforans* (Leuckart, 1879), *Eimeria magna* Pérard, 1925, *Eimeria media* Kessel e Jankiewicz, 1931 e *Eimeria irresidua* Kessel e Jankiewicz, 1931, todas do coelho domestico, bem como *Eimeria leporis* Nieschulz, 1923, parasita do intestino da lebre européa.

## DESCRIPÇÃO

O parasita em questão foi encontrado após a necropsia de um exemplar adulto de *Sylvilagus minensis*, achando-se distribuido com irregularidade no bolo fecal, ora mais frequente, ora muito raro, denotando, porem, sempre, infecção discreta.

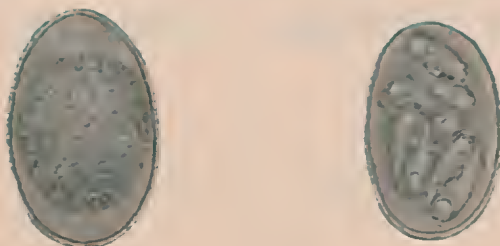
Os oocystos immaturos apresentam-se com forma ligeiramente oval, sendo mais estreito o polo em que se encontrará futuramente a micropyla. Esta é, aliás, invisivel nos exemplares immaturos. A coloração, vista com augmento forte, a secco, é de ligeira pigmentação amarello-esverdeada. Dimensões dos oocystos immaturos: 23,5 *micra* por 15,5 *micra* no ponto mais largo, sendo estas as medidas da grande maioria dos exemplares, encontrando-se, porem, alguns com minimo de 21,5 *micra* e outros com maximo de 25,5 *micra*, sendo, portanto, pequena a variação.

A maturação, que leva cerca de 48 horas a operar-se, dá logar a um augmento dessas dimensões que passam a ser de 23-26.5 *micra* para o comprimento e 15-16 *micra* para a maior largura.





O oocysto maduro apresenta 4 esporocystos ovoides, com uma das extremidades muito fina, não se vendo corpo residual no oocysto. Os esporocystos medem cerca de 12-14 *micra* de comprimento por por 5-7 *micra* de largura, vendo-se no interior de cada um 2 esporozoitos e um *reliquat* alongado.



Nos oocystos maduros distingue-se quasi sempre no polo mais fino um esboço de micropyla, que aliás, nunca é muito nitido.

Pelas suas dimensões, muito se approxima este oocysto do de *Eimeria perforans*, a coccidea do intestino do coelho domestico, cujo oocysto apresenta o comprimento medio de 22,7 *micra* e a largura de 14,2 *micra*, segundo o optimo trabalho de Kessel e Jankiewicz (1). Distingue-se, porem, desta especie, a unica com a qual é passivel de confusão, pela fórma mais ovoide de *E. pintoensis*, pela ausencia do *reliquat* do oocysto, que existe constantemente em *E. perforans*, bem como pela maior visibilidade da micropyla na especie que descrevemos.

A' necropsia apenas foram verificadas lesões intestinaes, ainda em estudo, achando-se o figado indemne.

A especie é dedicada ao notavel parasitologista, Prof. Cesar Pinto, que muito tem produzido em seus estudos sobre este grupo.

## ABSTRACT

*Eimeria pintoensis* is described as a parasite found in the faeces of the Brazilian wild rabbit, *Sylvilagus minensis*.

Immature oocysts are slightly ovoid in shape, with an average length of 23,5 *micra* (maximum 25,5 *micra* and minimum 21,5 *micra*) by 15,5 *micra* of breadth. Maturation is complete in about 48 hours and is followed by an increase in size: length — 23-26,5 *micra*; breadth — 15-16 *micra*. Mature oocysts present four ovoid sporocysts, pointed on one end and are devoid of residual body. Sporocysts are 12-14 *micra* in length by 5-7 *micra* in breadth and are formed by 2 sporozoits and an elongated residual body. The micropyla, although not very marked, is visible at the narrower end.

Absence of residual body and better visibility of the micropyla are the main characters of differentiation of this species from *E. perforans* (Leuckart) of the domestic rabbit.

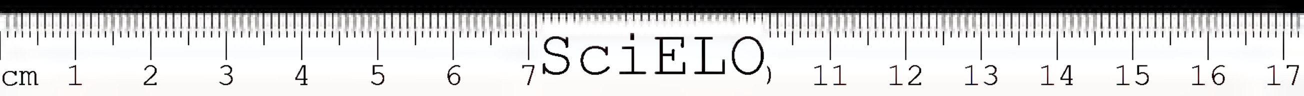
## BIBLIOGRAPHIA

*Kessel, John F. & Jankiewicz, Harry, A.* — Species differentiation of the coccidia of the domestic rabbit based on a study of the oocysts — Amer. J. Hygiene XIV(2): 304.1931.

(Trabalho da Secção de Protozoologia e Parasitologia do Instituto Butantan, setembro de 1932).



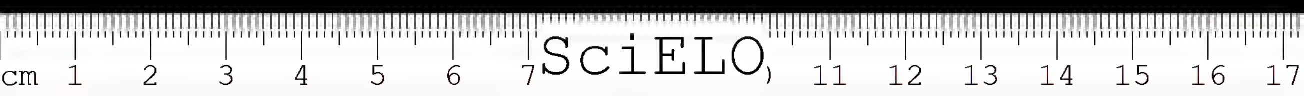



cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

# HEMAGGLUTININAS NATURAES NO SANGUE DE SERPENTES E DE OUTROS ANIMAES PECILOTHERMICOS

POR

AFRANIO DO AMARAL E D VON KLOBUSITZKY


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

612.111.44:598.12:597.8:598.11

# HEMAGGLUTININAS NATURAES NO SANGUE DE SERPENTES E DE OUTROS ANIMAES PECILOTHERMICOS

POR

AFRANIO DO AMARAL E D. VON KLOBUSITZKY

---

## INTRODUCÇÃO

Já ha muitos annos, Lacerda, em seus estudos fundamentaes sobre o veneno das serpentes (1 e 2), havia verificado que, postas em contacto com as peçonhas, as hematias humanas se reuniam em massa, collando-se umas ás outras e começavam sem demora a perder sua forma normal. Esta verificação foi logo repetida por Mitchell e Reichert (3) e, mais tarde, reproduzida por Mitchell e Stewart (4) e por Flexner e Noguchi (5), parecendo ter sido, embora indirectamente, o ponto de origem de innumeras pesquisas que, a partir daquella epoca, se fizeram sobre hemagglutininas. E' curioso, pois, que desde então os numerosos pesquisadores que em todo o mundo se têm occupado com as hemagglutininas, as hajam pesquisado quasi exclusivamente no sangue de animaes homeothermicos, taes como o homem, o cavallo, o boi, o cão, o gato, o coelho, a cobaia, o rato e a gallinha, conforme se deprehende dos trabalhos originaes de Landsteiner (6), von Dungern (7), Brockmann (8), Pick (9), Morgenroth e Braun (10) e, mais recentemente, dos de Biancalana (11), Karshner (12 e 13) e Fischer e Klinkhart (14), ficando, assim, inteiramente esquecidos os ophidios e os outros animaes pecilothermicos. Essa omissão tem contribuido incontestavelmente para difficultar a interpretação verdadeira dos phenomenos intimos da hemagglutinação, sem duvida ligados a um biochimismo ainda pouco analysado.

Para elucidação desses phenomenos seria necessario que se investigasse preliminarmente a presença de agglutininas naturaes em todo o reino animal, afim de se averiguar o determinismo de seu apparecimento, desde os vertebrados até os typos de organização mais rudimentar, nos quaes talvez o phenomeno fosse de natureza menos complexa e, pois, mais facilmente comprehensivel. E' bem verdade que, á medida que se aprofundam os nossos conhecimentos sobre a

zoogénese, menos se acredita na theoria do apparecimento dos varios grupos de animaes por mercê de transformações successivas, sinão em sua origem mais ou menos independente, conforme Clark (15) ainda recentemente mostrou; mas não é menos certo que nas organizações menos complexas as reacções physiologicas e, portanto, os phenomenos immunologicos sejam de mais facil interpretação. Por isso, resolvémos estudar as agglutininas naturaes do sangue de certos ophidios, batrachios e lacertidios, á espera de que outros pesquisadores possam retomar o fio desses estudos, fazendo investigações nos demais grupos.

---

## EXPERIMENTAÇÃO

*Especies animaes* — Pesquisámos hemagglutininas naturaes nos seguintes typos:

### A. Ophidios

Giboia — *Constrictor constrictor constrictor* (L.), fam. *Boidae.*
Cobra nova — *Drymobius bifossatus* (Raddi), fam. *Colubridae.*
Boipeva — *Ophis merremii* Wagler, fam. *Colubridae.*
Jararaca — *Bothrops jararaca* (Wied), fam. *Crotalidae.*
Jararacussú — *B. jararacussu* Lacerda, fam. *Crotalidae.*
Urutú — *B. alternata* Dm. & Bibr., fam. *Crotalidae.*
Cotiara — *B. cotiara* (Gomes), fam. *Crotalidae.*
Cascavel — *Crotalus terrificus terrificus* (Laurentius), fam. *Crotalidae.*

### B. Batrachios

Sapo cururú — *Bufo marinus* (L.), fam. *Bufonidae.*
Sapo itanha — *Ceratophrys dorsata* Wied, fam. *Cystignathidae.*

### C. Lacertidios

Papavento — *Polychrus acutirostris* Spix, fam. *Iguanidae.*

*Technica* — Para obtenção do material, os exemplares eram sangrados e o sangue recolhido em tubos de ensaio com 0,5 cc. de soluto de citrato de sodio a 20%; o sangue era immediatamente centrifugado e o *plasma* obtido, marcado e conservado em tubo de ensaio, com fragmento de thymol, na geladeira. Os

*globulos* decantados eram lavados em soluto de chloreto de sodio a 0,6% e repetidamente centrifugados e lavados 3 ou mais vezes; em seguida eram separados em tubo de ensaio convenientemente marcado, no qual se addicionava 1 cc. de soluto physiologico para cada 1 cc. de hematias, que eram em seguida conservadas, com pequeno fragmento de thymol, na geladeira.

Ao se proceder á reacção, os plasmas eram indicados por algarismos arabicos (1, 2, 3, etc.) de accordo com as especies correspondentes e as hematias eram indicadas por algarismos romanos (I, II, III, etc.), tambem segundo as especies.

*Reacção* — 1.° Marcava-se previamente uma lamina por uma notação de typo fraccional, cujo numerador, em algarismo romano, indicava a qualidade das hematias, e o denominador, em algarismo arabico, representava o plasma empregado;

2.° collocava-se, no centro dessa lamina, uma gotta de soluto physiologico a 0,6% e, sobre ella, o conteudo de uma alça de platina de hematias e outra de plasma, misturando-se os 3 elementos cuidadosamente no centro do preparado;

3.° levava-se a lamina ao microscopio e pesquisava-se, com vagar, qualquer indicio de agglutinação.

Desde que se mostrassem positivas, isto é, desde que se encontrasse agglutinação, as experiencias eram repetidas em maior escala, fazendo-se então a prova macroscopica, do seguinte modo:

1.° Marcava-se um tubo de ensaio pelo mesmo systema usado em relação ás laminas;

2.° collocava-se nelle 1,5 cc. do soluto physiologico, addicionando-se-lhe logo em seguida 0,1 cc. de hematias e 0,1 cc. de plasma;

3.° agitava-se bem a mistura que se deixava depois em repouso por alguns minutos, pesquisando-se então as agglutinações no seio do liquido.

Consideravam-se positivas somente as experiencias em que a agglutinação occorria pelos dois processos: em lamina e em tubo.

Conduzimos a investigação por etapas, pesquisando primeiramente a presença de iso-hemagglutininas e depois a de hetero-agglutininas, respectivamente, em ophidios, batrachios e lacertidios.

## I. Pesquisa de iso-hemagglutininas em ophidios

(Quadro I)

| Hematias | Plasma | Resultados |
|---|---|---|
| Giboia XXIV | Giboia 23 | — (negativo) |
| Cobra nova XXV | Cobra nova 26 | — (negativo) |
| " " XXVI | " " 25 | — ( " ) |
| Jararaca I | Jararacas 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 | — (todos negativos) |
| " II | " 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 | — " " |
| " III | " 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9 | — " " |
| " IV | " 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 | — " " |
| " V | " 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9 | — " " |
| " VI | " 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 | — " " |
| " VII | " 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9 | — " " |
| " VIII | " 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 | — " " |
| " IX | " 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 | — " " |
| Jararacussú XIII | Jararacussús 14 e 15 | — (ambos negativos) |
| " XIV | " 14 e 15 | — " " |
| " XV | " 14 e 15 | — " " |
| Urutú XVI | Urutús 17 e 18 | — (ambos negativos) |
| " XVII | " 16 e 18 | — " " |
| " XVIII | " 16 e 17 | — " " |
| Cotiara XIX | Cotiaras 20 e 21 | — (ambos negativos) |
| " XX | " 19 e 21 | — " " |
| " XXI | " 20 e 19 | — " " |

## II. Pesquisa de hetero-hemagglutininas em ophidios

(Quadro II)

| Hematias | Plasma | Resultados |
|---|---|---|
| Giboia XXIV | Cobra nova 25 | — (negativo) |
| Giboia XXIV | Jararacas 2, 4, 6, 8 | — (todos negativos) |
| Giboia XXIV | Jararacussús 13, 14, 15 | — (todos negativos) |
| Giboia XXIV | Urutús 16, 17, 18 | — (todos negativos) |
| Giboia XXIV | Cotiaras 19, 20, 21 | — (todos negativos) |
| Giboia XXIV | Cascaveis 10, 11, 12 | — (todos negativos) |

**II. Pesquisa de hetero-hemagglutininas em ophidios (continuação)**

(QUADRO II)

| HEMATIAS | PLASMA | RESULTADOS |
|---|---|---|
| Cobra nova XXV | Giboias 23 e 24 | — (ambos negativos) |
| Cobra nova XXV<br>" " XXVI | Boipevas 27, 28, 29<br>" 27, 28, 29 | — (todos negativos)<br>— " " |
| Cobra nova XXV | Jararacas 2, 6, 8, 9 | — (todos negativos) |
| Cobra nova XXV | Jararacussús 13, 14, 15 | — (todos negativos) |
| Cobra nova XXV | Urutús 16, 17, 18 | — (todos negativos) |
| Cobra nova XXV | Cotiaras 19, 20, 21 | — (todos negativos) |
| Cobra nova XXV | Cascaveis 10, 11, 12 | — (todos negativos) |
| Boipeva XXVII<br>" XXVIII<br>" XXIX | Giboias 23 e 24<br>" 23 e 24<br>" 23 e 24 | — (ambos negativos)<br>— " "<br>— " " |
| Boipeva XXVII<br>" XXVIII<br>" XXIX<br>Boipeva XXVII<br>" XXVIII<br>" XXIX | Cobras novas 13, 14, 15<br>" " 13, 14, 15<br>" " 13 14, 15<br>Cobras novas 25 e 26<br>" " 25 e 26<br>" " 25 e 26 | — (todos negativos)<br>— " "<br>— " "<br>— (ambos negativos)<br>— " "<br>— " " |
| Boipeva XXVII<br>" XXVIII<br>" XXIX | Jararacas 4, 5, 6, 7<br>" 4, 5, 6, 7<br>" 4, 5, 6, 7 | — (todos negativos)<br>— " "<br>— " " |
| Boipeva XXVII<br>" XXVIII<br>" XXIX | Urutús 16, 17, 18<br>" 16, 17, 18<br>" 16, 17, 18 | — (todos negativos)<br>— " "<br>— " " |
| Boipeva XXVII<br>" XXVIII<br>" XXIX | Cotiaras 19, 20, 21<br>" 19, 20, 21<br>" 19, 20, 21 | — (todos negativos)<br>— " "<br>— " " |
| Boipeva XXVII<br>" XXVIII<br>" XXIX | Cascaveis 10, 11, 12<br>" 10, 11, 12<br>" 10, 11, 12 | — (todos negativos)<br>— " "<br>— " " |
| Jararaca I<br>" II<br>" III<br>" IV<br>" V<br>" VI<br>" VII<br>" VIII<br>" IX | Cascaveis 10, 11, 12<br>" 10, 11, 12<br>" 10, 11, 12<br>" 10, 11, 12<br>" 10, 11, 12<br>" 10, 11, 12<br>" 10, 11, 12<br>" 10, 11, 12<br>" 10, 11, 12 | — (todos negativos)<br>— " "<br>— " "<br>— " "<br>— " "<br>— " "<br>— " "<br>— " "<br>— " " |

## II. Pesquisa de hetero-hemagglutininas em ophidios (continuação)

(Quadro II)

| Hematias | Plasma | Resultados |
|---|---|---|
| Jararacussú XIII | Jararacas 1. 4. 5. 7. 9 | — (todos negativos) |
| " XIV | " 1. 4. 5. 7. 9 | — " " |
| " XV | " 1. 4. 5. 7. 9 | — " " |
| Jararacussú XIII | Urutús 16. 17. 18 | — (todos negativos) |
| " XIV | " 16. 17. 18 | — " " |
| " XV | " 16. 17. 18 | — " " |
| Jararacussú XIII | Cascaveis 10. 11. 12 | — (todos negativos) |
| " XIV | " 10. 11. 12 | — " " |
| " XV | " 10. 11. 12 | — " " |
| Urutú XVI | Jararacas 2. 4. 6. 8. 9 | — (todos negativos) |
| " XVII | " 2. 4. 6. 8. 9 | — " " |
| " XVIII | " 2. 4. 6. 8. 9 | — " " |
| Urutú XVI | Jararacussús 13. 14. 15 | — (todos negativos) |
| " XVII | " 13. 14. 15 | — " " |
| " XVIII | " 13. 14. 15 | — " " |
| Urutú XVI | Cascaveis 10. 11. 12 | — (todos negativos) |
| " XVII | " 10. 11. 12 | — " " |
| " XVIII | " 10. 11. 12 | — " " |
| Cotiara XIX | Jararacas 2. 4. 6. 9 | — (todos negativos) |
| " XX | " 2. 4. 6. 9 | — " " |
| " XXI | " 2. 4. 6. 9 | — " " |
| Cotiara XIX | Jararacussús 13. 14. 15 | — (todos negativos) |
| " XX | " 13. 14. 15 | — " " |
| " XXI | " 13. 14. 15 | — " " |
| Cotiara XIX | Urutús 16. 17. 18 | — (todos negativos) |
| " XX | " 16. 17. 18 | — " " |
| " XXI | " 16. 17. 18 | — " " |
| Cotiara XIX | Cascaveis 10. 11. 12 | — (todos negativos) |
| " XX | " 10. 11. 12 | — " " |
| " XXI | " 10. 11. 12 | — " " |
| Cascavel X | Jararacas 1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9 | — (todos negativos) |
| " XI | " 1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9 | — " " |
| " XII | " 1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9 | — " " |

## III. Pesquisa de iso-hemagglutininas em batrachios

(QUADRO III)

| HEMATIAS | PLASMA | RESULTADOS |
|---|---|---|
| Sapo cururú XXX | Sapos cururús 31, 32, 33, 34, 35 | — (todos negativos) |
| " " XXXI | " " 30, 32, 33, 34, 35 | — " " |
| " " XXXII | " " 30, 31, 33, 34, 35 | — " " |
| " " XXXIII | " " 30, 31, 32, 34, 35 | — " " |
| " " XXXIV | " " 30, 31, 32, 33, 35 | — " " |
| " " XXXV | " " 30, 31, 32, 33, 34 | — " " |
| Sapo cururú XLI | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 42, 43 | — (todos negativos) |
| " " XLII | " " 30, 31, 32, 33, 34, 35, 41, 42 | — " " |
| " " XLIII | " " 30, 31, 32, 33, 34, 41, 42 | — " " |
| Sapo itanha I | Sapos itanhas 1, 2 | — (ambos negativos) |
| " " II | " " 1, 2 | — " " |

## IV. Pesquisa de hetero-hemagglutininas em batrachios

(QUADRO IV)

| HEMATIAS | PLASMA | RESULTADOS |
|---|---|---|
| Sapo cururú I | Sapos itanhas 1, 2 | — (ambos negativos) |
| " " II | " " 1, 2 | — " " |
| Sapo itanha I | Sapos cururús 1, 2 | — (ambos negativos |
| " " II | " " 1, 2 | — " " |

## V. Pesquisa de hetero-agglutininas no plasma de serpentes em relação a hematias de batrachio

(QUADRO V)

| HEMATIAS | PLASMA | RESULTADOS |
|---|---|---|
| Sapo cururú XXX | Boipevas 27, 28, 29 | — (todos negativos) |
| " " XXXI | " 27, 28, 29 | — " " |
| " " XXXII | " 27, 28, 29 | — " " |
| Sapo cururú XXXIII | Boipevas 27, 28, 29 | — (todos negativos) |
| " " XXXIV | " 27, 28, 29 | — " " |
| " " XXXV | " 27, 28, 29 | — " " |
| Sapo cururú XXXIII | Cobras novas 25 e 26 | — (ambos negativos) |
| " " XXXIV | " " 25 e 26 | — " " |
| " " XXXV | " " 25 e 26 | — " " |

V. **Pesquisa de hetero-agglutininas no plasma de serpentes em relação a hematias de batrachio (continuação)**

(Quadro V)

| Hematias | Plasma | Resultados |
|---|---|---|
| Sapo cururú XXX | Cobras novas 25 e 26 | — (ambos negativos) |
| " " XXXI | " " 25 e 26 | — " " |
| " " XXXII | " " 25 e 26 | — " " |
| Sapo cururú XXX | Cascaveis 10, 11, 12 | — (todos negativos) |
| " " XXXI | " 10, 11, 12 | — " " |
| " " XXXII | " 10, 11, 12 | — " " |
| Sapo cururú XXXIII | Cascaveis 10, 11, 12 | — (todos negativos) |
| " " XXXIV | " 10, 11, 12 | — " " |
| " " XXXV | " 10, 11, 12 | — " " |

VI. **Pesquisa de hetero-agglutininas em plasma de batrachio em relação a hematias de serpentes**

(Quadro VI)

| Hematias | Plasma | Resultados |
|---|---|---|
| Boipeva XXVII | Sapos cururús 30, 31, 32 | — (Todos negativos) |
| " XXVIII | " " 30, 31, 32 | — " " |
| " XXIX | " " 30, 31, 32 | — " " |
| Cobra nova XXV | Sapos cururús 30, 31, 32 | — (Todos negativos) |
| " " XXVI | " " 30, 31, 32 | — " " |

VII. **Pesquisa de hetero-agglutininas no plasma de serpentes em relação a hematias de cavallos**

(Quadro VII)

| Hematias | Plasma | Resultados |
|---|---|---|
| Cavallo DC<br>" DCIII<br>" DCIV<br>" DCV<br>" DCVI | Giboia 23. Cobras novas 24, 25, 26. Boipevas 27, 28, 29. Jararacas 1, 2, 4, 6, 7, 9. Jararacas 10, 11, 12. Urutús 16, 17, 18. Cotiaras 19, 20, 21. Cascaveis 10, 11, 12. | — (Todos negativos) |

**VIII. Pesquisa de hetero-agglutininas no plasma de cavallos em relação a hematias de serpentes**

(QUADRO VIII)

| HEMATIAS | PLASMA | RESULTADOS |
| --- | --- | --- |
| Jararacas I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX<br>Cascaveis X, XI, XII<br>Jararacussús XIII, XIV, XV<br>Urutús XVI, XVII, XVII, XVIII<br>Cotiaras XIX, XX, XXI<br>Giboias XXIII, XXIV<br>Cobras novas XXV, XXVI<br>Boipevas XXVII, XXVIII, XXIX | Cavallos 600, 603, 604, 605, 606 | — (Todos negativos) |

Incidentemente, procurámos verificar si nos plasmas equinos com que estavamos trabalhando existiriam hetero-agglutininas naturaes para as hematias de alguns animaes domesticos (cabra e bode, ovelha e carneiro). Os resultados dessa investigação, que foram todos negativos, encontram-se no quadro IX.

(QUADRO IX)

| HEMATIAS | PLASMA | RESULTADOS |
| --- | --- | --- |
| Cabra XLV | Cavallos 600, 603, 604, 605, 606 | — (Todos negativos) |
| Bode XLVI | " " " " " " | — " " |
| Bode XLVII | " " " " " " | — " " |
| Ovelha XLVIII | " " " " " " | — " " |
| Ovelha XLIX | " " " " " " | — " " |
| Carneiro L | " " " " " " | — " " |

X. Pesquisa de hetero-agglutininas no plasma de serpentes e de um batrachio, em relação a hematias do papavento (lacertidio).

Esta pesquisa seria interessante, porque, sendo o sapo cururú (*Bufo marinus*) omni-carnivoro e alimentando-se incidentemente de pequenos lagartos, de que ás vezes a jararaca e a cascavel tambem se nutrem, o genero de alimentação poderia influir de algum modo no apparecimento das hemagglutininas naturaes. Os resultados desta pesquisa, que se encontram no quadro X, mostram

que o plasma de 4 jararacas possuia hemagglutininas naturaes para hematias de pelo menos 2 papaventos; o de 2 cascaveis as possuia para as hematias do papavento XXXIX e o de uma outra para as hematias do papavento XL; o plasma de um dos sapos cururús as possuia para as hematias de 1 papavento.

(QUADRO X)

| HEMATIAS | PLASMA | RESULTADOS |
|---|---|---|
| Papavento XLIV | Giboias 23, 24 | — (ambos negativos) |
| " " | Cobras novas 25, 26 | — " " |
| " " | Boipevas 27, 28, 29 | — (todos negativos) |
| " " | Jararacas 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9 | — e +++ (positivo forte com o plasma 5 e negativo com os demais) |
| " " | Jararacussús 13, 14, 15 | — (Todos negativos) |
| " " | Urutús 16, 17, 18, 19, 20, 21 | — " " |
| " " | Cascaveis 10, 11, 12 | — " " |
| " XXXIX | Jararacas 2, 4, 6 | + (positivos fracos) |
| " " | Cascaveis 10, 11, 12 | — e +++ (positivos fortes com os plasmas 10 e 11) |
| " XL | Jararacas 2, 4, 6 | — e + (positivo fraco com os plasmas 2) |
| " " | Cascaveis 10, 11, 12 | — e +++ (positivo forte com o plasma 11) |
| Papavento XLIV | Sapos cururús 30, 31, 32, 35, 38, 42, 43 | — e ++ (positivo medio com o plasma 38 e negativos com os demais) |

**XI. Pesquisa de hetero-agglutininas em plasma de papavento em relação a hematias de cavallos**

(QUADRO XI)

| HEMATIAS | PLASMA | RESULTADOS |
|---|---|---|
| Cavallo DC | Papavento 44 | — (negativo) |
| " DCIII | " " | — " |
| " DCIV | " " | — " |
| " DCV | " " | — " |
| " DCVI | " " | — " |

**XII. Pesquisa de hetero-agglutininas naturaes no plasma de sapos cururús em relação a hematias de alguns animaes domesticos (cabra e bode, ovelha e carneiro).**

(QUADRO XII)

| HEMATIAS | PLASMA | RESULTADOS |
|---|---|---|
| Cabra XLV | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | — (todos negativos) |
| Bode XLVI | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | — " " |
| Bode XLVII | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | — " " |
| Ovelha XLVIII | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | — " " |
| Ovelha XLIX | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | — " " |
| Carneiro L | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | — " " |

**XIII. Pesquisa de hetero-agglutininas no plasma de sapos cururús em relação a hematias de cavallos**

Os resultados dessas pesquisas acham-se registados no

(QUADRO XIII)

| HEMATIAS | PLASMA | RESULTADOS |
|---|---|---|
| Cavallo DC | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | —, + e +++ (positivo fraco com o plasma 35, forte com os plasmas 36, 41, 42, 43 e negativos com os demais). |
| " DCIII | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | — todos negativos) |
| " DCIV | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | — e +++ (positivos fortes com os plasmas 35, 36, 41, 42, 43 e negativos com os demais) |
| " DCV | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | — (todos negativos) |
| " DCVI | Sapos cururús 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 43 | — (todos negativos) |

No quadro acima se vê que algumas vezes, por motivo de difficil interpretação á luz de nossos actuaes conhecimentos, no plasma do sapo se encontram agglutininas naturaes para as hematias do cavallo. Seria, portanto, interessante verificar si no plasma do cavallo tambem occorrem agglutininas naturaes para as hematias do sapo cururú. Os resultados dessa prova encontram-se no quadro XIV.

(Quadro XIV)

| Hematias | Plasma | Resultados |
|---|---|---|
| Sapo cururú XXXVI | Cavallos 600, 603, 604, 605, 606 | +++ (positivo forte em todos os plasmas) |
| " " XXXVII | " " " " " " | +++ (positivo forte em todos os plasmas) |
| " " XXXVIII | " " " " " " | +++ (positivo forte em todos os plasmas) |
| " " XLI | " " " " " " | +++ e — (positivo forte nos plasmas 600 e 603 e negativo nos outros) |
| " " XLII | " " " " " " | +++ (positivo forte em todos os plasmas) |
| " " XLIII | " " " " " " | +++ (positivo forte em todos os plasmas) |

O resultado foi fortemente positivo em todas as provas, com excepção dos plasmas equinos 604, 605 e 606, que não agglutinaram as hematias do sapo cururú XLI.

## CONCLUSÕES

Das diversas series de pesquisas feitas com varias especies de ophidios, duas especies de batrachios e uma de lacertidio pudemos concluir o seguinte:

1.° — No plasma dos typos estudados não existem auto-hemagglutininas, iso-hemagglutininas ou hetero-hemagglutininas naturaes em relação a qualquer desses typos;

2.° — no plasma de certas serpentes e do sapo cururú (*Bufo marinus*) encontram-se algumas vezes agglutininas naturaes para as hematias do papavento (*Polychrus acutirostris*), em cujo plasma não se encontraram hetero-agglutininas para as hematias de cavallos;

3.° — não existem tão pouco, no plasma das serpentes estudadas, hetero-agglutininas para as hematias do cavallo, nem no plasma deste para as hematias daquellas, ou para as de certos outros animaes domesticos (caprinos e ovinos);

4.° — o plasma do sapo cururú (*Bufo marinus*) não revelou hetero-agglutininas para as hematias de certos animaes domesticos (caprinos e ovinos), mas apresentou-as algumas vezes para as hematias de cavallos;

5.° — o plasma da quasi totalidade dos cavallos estudados, por sua vez, revelou hetero-agglutininas para as hematias do sapo cururú.

## ZUSAMMENFASSUNG


Aus den mit den Blutbestandteilen von acht Schlangenarten, von zwei Krötenarten, von einer Eidechsenart, von Pferden, Schafen und Ziegen erreichten Resultaten lassen sich die nachstehenden Folgerungen ziehen:

1) Die Plasmen der untersuchten Kaltblüter enthalten weder Auto- noch Isohämagglutinine, und ebensowenig sind in diesen aufeinander wirksame Heteroagglutinine vorhanden.

2) In den Plasmen gewisser Schlangenarten und der *Bufo marinus* können gelegentlich auf die Eidechsenerythrozyten wirksame Heteroagglutinine vorkommen; in dem Plasma der letztgenannten sind aber keine auf Pferdeblutkörperchen eingestellte Heteroagglutinine vorhanden.

3) Ebensowenig existieren in den Plasmen der untersuchten Schlangenarten auf Pferdeblutkörperchen wirksame oder in den Pferdeplasmen auf Schlangenerythrozyten wirksame Heteroagglutinine.

4) Das Plasma der *Bufo marinus* ruft keine Agglutination bei den Ziegen- und Schafblutkörperchen hervor, aber es agglutiniert in einigen Fällen die Pferdeerythrozyten.

5) Fast alle die untersuchten Pferde haben in ihren Plasmen auf die Erythrozyten der sämtlichen *Bufo marinus*-Exemplare wirksame Heteroagglutinine enthalten.


---





## BIBLIOGRAPHIA


1. *Lacerda, J. B. de* — Venin des serpents — C. R. Acad. Sc. Paris — LXXXVII:1093-1905.1878.
2. *Lacerda, J. B. de* — Leçons sur le venin des serpents du Brésil:88 (Lombaerto & Cia. Rio).1884.
3. *Mitchell, S. Weir & Reichert, E. T.* — Preliminary reports on the venom of serpents. — Med. News, Philadelphia XLII:469-472.1883.
4. *Mitchell, S. W. & Stewart,* A contribution to the study of the action of the venom of the *Crotalus adamanteus* upon the blood — Transact. Coll. Phys. Philadelphia. XIX:105.1897.
5. *Flexner, S. & Noguchi, H.* — Snake venon in relation to haemolysis, bacteriolysis and toxicity — J. Exp. Med. VI:277.1902.
6. *Landsteiner, K.* — Beziehungen zwischen dem Blutserum und den Körperzellen. — Münch. med. Wochenschr.:1812.1903.
7. *von Dungern, E. & Hirschfeld, L.* — Ueber Vererbung gruppenspezifischer Strukturen des Blutes. — Zeitschr. f. Immunitätsf. VI:1.1910.
8. *Brockmann, H.* — Ueber gruppenspezifische Strukturen des tierischen Blutes. — Zeitschr. f. Immunitätsf. IX:87.1911.
9. *Pick, E. P.* — Biochemie der Antigene, mit besonderer Berücksichtigung der chemischen Grundlagen der Antigenspezifizität, in-Kolle & Wassermann-Handbuch d. pathog. Mikroorganismen I:721.1912.
10. *Morgenroth, J. & Braun, H.* — Die Vererbungsfrage in der Immunitätslehre in - Kolle & Wassermann — op. cit. II(2):1167.1913.
11. *Biancalana, L.* — Sull'isoagglutinazione e su di una particolare attività selettiva delle etero-agglutinine del sangue dei ratti albini sui globuli rossi umani. — Boll. Soc. Ital. biol. sper. II:743-746.1927 e Arch. per le sc. med. XLIX:541-542.1927.
12. *Karshner, W. M.* — Hemagglutination in blood of bovines. — J. Lab. & Clin. Med. XIV:225-228.1928.
13. *Karshner, W. M.* — Agglutination in blood of chickens. — J. Lab. & Clin. Med. XIV: 346-350.1929.
14. *Fischer, W. & Klinkhart, G.* — Isohemagglutination and isohemolysis in rabbits. — Arb.a.d.Staats-Inst. f. exper. Therap. (22):31-39.1929.
15. *Clark, A. H.* — The new evolution — Zoogenesis (William & Wilkins C.):235-260.1930.


**(Trabalho das secções de Ophiologia e de Physico-Chimica do Instituto Butantan, apresentado em dezembro de 1932 e publicado em alemão in Zeitschr. f. Immunitätsf. LXXVII (3,4): 315-326. 1932).**

# ESTUDOS EXPERIMENTAES SOBRE O BACILLO DE FRIEDMANN

POR

J. LEMOS MONTEIRO E J. TRAVASSOS

*(com 6 gravuras no texto)*


SciELO

616.995:598.13

# ESTUDOS EXPERIMENTAES SOBRE O BACILLO DE FRIEDMANN

POR

J. LEMOS MONTEIRO E J. TRAVASSOS

---

## INTRODUCÇÃO

I — Origem do bacillo de Friedmann. Argumentos de Friedmann e de seus partidarios sobre a origem humana do bacillo e da sua attenuação no organismo da tartaruga.

II — Argumentos contrarios dos que não acreditam na origem humana do bacillo, nem em uma possivel adaptação á tartaruga.

## PARTE EXPERIMENTAL

I — O bacillo de Friedmann estudado: a) isolamento da nossa cultura; b) caracteres culturaes, morphologicos e biologicos; c) pathogenicidade para os animaes de sangue quente; d) pathogenicidade para os animaes de sangue frio; e) producção da tuberculina.

II — Relações com o bacillo da tuberculose humana: a) resultados das inoculações e passagens; b) comportamento dos animaes inoculados com bacillos da tuberculose humamana, de Friedmann e B.C.G., em relação ás tuberculinas do bacillo da tuberculose humana e do bacillo de Friedmann; c) comportamento das cobaias inoculadas com o bacillo de Friedmann em relação á infecção tuberculosa experimental.

III — Discussão e Summario.

IV — Conclusão.






SciELO

# ESTUDOS EXPERIMENTAES SOBRE O BACILLO DE FRIEDMANN

POR

J. LEMOS MONTEIRO E J. TRAVASSOS

O chamado "remedio de Friedmann", ultimamente apparecido entre nós e destinado a prevenir e curar a tuberculose, motivou longas e acaloradas discussões, principalmente em seu paiz de origem, interessando um grande numero de experimentadores, muitos de reputado renome scientifico, que procuraram com os mais variados argumentos realçar ou desapprovar o seu valor.

Ha pouco mais de um anno a vaccina de Friedmann foi posta á venda em S. Paulo e noutras cidades do Brasil. No nosso paiz ainda não tinha sido realizado um estudo experimental que confirmasse as asseverações de Friedmann e, dados os resultados por vezes oppostos obtidos pelos varios experimentadores que estudaram o bacillo, encetámos, em uma serie de pesquisas, um estudo experimental sobre o assumpto, afim de verificarmos si colheriamos dados capazes de justificar as bases que orientam e justificam o emprego de tal remedio.

São os resultados dessas experiencias que constituem o assumpto do presente trabalho, embora por si sós não sejam sufficientes para a justificação de uma conclusão definitiva, principalmente pelo facto de não se dever, em materia de tuberculose, transportar com facilidade os resultados experimentaes em animaes para o homem.

## INTRODUCÇÃO

### I

*Origem do bacillo de Friedmann — Argumentos de Friedmann e de seus partidarios sobre a origem humana do bacillo e sua attenuação no organismo da tartaruga.*

Em junho de 1903, Friedmann publicou o seu primeiro trabalho sobre cultura, biologia e virulencia de um bacillo acido-resistente por elle encontrado e isolado de nodulos caseosos do pulmão de uma tartaruga affectada de tuber-





culose espontanea. Por essa epoca já tinha examinado duas tartarugas maritimas (*Chelone corticata*) do aquario de Berlim. Uma havia morrido em 6 de dezembro de 1902 e outra, em 3 de janeiro de 1903. A ultima permanecera de 2 a 3 annos no aquario, isolada da outra e com ella nunca havia tido contacto. A primeira apresentava todo o pulmão direito affectado, com uma grande caverna; na segunda os dois pulmões estavam tuberculosos com muitos nodulos miliares.

Esses animaes eram tratados por um guarda tuberculoso e dahi a supposição de Friedmann que elle os tivesse contaminado.

Desses animaes foram isolados dois bacillos acido-resistentes. Um delles, segundo Friedmann, mantem um parentesco estreito com o bacillo da tuberculose dos mammiferos, e com elle se confunde pelo desenvolvimento a 37°, pelo aspecto macroscopico das culturas e microscopico dos elementos cultivados e, ainda, pelo papel pathogenico para as cobaias. Por esses motivos elle separou tal bacillo dos demais acido-resistentes dos animaes de sangue frio, para os quaes, no entanto, verificou ser pathogenico.

Esses interessantes caracteristicos do germe encaminharam Friedmann á supposição de ser o germe em apreço um bacillo da tuberculose humana attenuado no organismo da tartaruga, tendo assim o acaso conseguido o que muitos auctores não lograram obter experimentalmente, isto é, tornar um bacillo da tuberculose dos mammiferos pathogenicos para os animaes de sangue frio.

Friedmann enveredou desde logo para o campo da immunologia. Em um segundo trabalho, publicado em dezembro de 1903, mostrou os resultados de suas primeiras experiencias sobre a immunidade que uma inoculação desses bacillos conferia á cobaia, observando que os animaes testemunhas apresentavam o quadro classico da tuberculose generalizada e os vaccinados, no ponto da inoculação, um fóco de infiltração que se tornava caseo-purulento, desapparecendo em seguida sem deixar vestigios; os ganglios da região reagiam, augmentando de volume, mas voltavam logo depois ao normal; os animaes posteriormente augmentavam de peso e seu estado geral se tornava excellente. Sacrificados no fim de 3 meses, apresentavam lesões insignificantes dos organs internos, pequenos pontos esbranquiçados ou cinzentos, que, no opinar de Friedmann, não eram verdadeiros tuberculos, mas filiaveis ás lesões observadas em animaes refractarios á tuberculose ou immunizados por processos diversos, tal como haviam encontrado Koch, Neufeld e Behring.

Baseado nessas experiencias, Friedmann annunciou a sua proxima vaccina inoffensiva e immunizante para animaes de sangue quente.

Em janeiro de 1904, respondendo a Moeller, expoz as razões pelas quaes julgava que o bacillo do tuberculose da tartaruga possuia as condições de um elemento vaccinante ideal, o que o fazia, neste particular, superior a todos os outros bacillos acido-resistentes estudados. Uma vaccina ideal devia, segundo Friedmann, assemelhar-se o mais possivel ao virus contra o qual se desejava

que ella actuasse, alem de dever ser absolutamente inoffensiva, tendo embora soffrido o minimo de attenuação.

Todas estas propriedades acham-se, felizmente, combinadas no bacillo da tuberculose da tartaruga. Realmente, elles crescem bem na temperatura ambiente, mas dão ao mesmo tempo, a 37°, uma cultura muito abundante, assemelhando-se completamente ás de tuberculose humana e bovina. O bacillo determina na cobaia uma lesão especifica, porém, ligeira, bem localizada e susceptivel de cura completa. Todos os mammiferos examinados (cobaia, coelho, camondongo, rato, cão, cabra, burro, boi, carneiro, porco, cavallo) mostraram-se refractarios, mesmo ás altas doses de culturas frescas do bacillo da tartaruga, e, á necropsia, não se poude perceber o menor signal de bacillos, nem lesões que lhes pudessem ser attribuidas. A propriedade de cultivar-se a 37°, longe de trazer um certo perigo, como pensa Moeller, é, ao contrario, uma superioridade sobre o bacillo de Moeller. Friedmann apoiou esta sua opinião sobre a seguinte observação: durante as suas pesquisas, teve occasião de isolar de uma tartaruga um bacillo tuberculoso que se differençava do antigo pela propriedade de crescer apenas a 22°; os animaes vaccinados com esta nova raça de bacillo manifestavam immunidade muito menos solida do que os preparados com a raça cultivavel a 37°. Nesse mesmo trabalho relata a historia de 2 cobaias inoculadas uma só vez com o seu primitivo germe e que supportaram bem infecções peritoneaes de doses de bacillo tuberculoso (0,001 e 0,003 grs.) sufficientes para matar os testemunhas em 18 e 30 dias.

Continuando seus trabalhos, Friedmann, em novembro de 1904, expoz os resultados de experiencias de immunização contra a tuberculose bovina e os de tratamento da tuberculose pelo soro-immune. Injectou nas veias de bovinos uma emulsão de bacillos da tuberculose da tartaruga e conseguiu conferir-lhes uma solida immunidade á tuberculose bovina. Do mesmo modo pretendeu poder curar, pelo mesmo processo, bovinos já tuberculosos. Emfim, affirmou que o soro dos animaes inoculados com o seu bacillo continha substancias especificas capazes de influenciar desfavoravelmente a evolução da tuberculose de um animal novo e recentemente inoculado.

Em 1912, Friedmann fez a sua primeira communicação á Sociedade de Medicina de Berlim e, logo depois, publicou o seu artigo "Heil-und Schutzimpfung der menschlichen Tuberkulose", onde relatou os primeiros ensaios da applicação da vaccina no homem.

Dessa data em diante, as publicações de Friedmann dizem respeito ás questões de tratamento da tuberculose do homem por meio da sua vaccina, trazendo refutações aos innumeros opposicionistas do remedio. Não sendo o nosso intuito estudar esta parte da questão, só occasionalmente citaremos um ou outro dos seus trabalhos posteriores a essa phase.

As idéas de Friedmann foram acceitas por um não pequeno numero de experimentadores. Destes, avolumam-se os que estudaram o effeito therapeutico

do remedio em doentes com localizações tuberculosas diversas. Outros verificaram o papel preventivo da vaccina, quer em animaes, quer no homem e um pequeno grupo dedicou-se ás verificações da biologia do germe. Como todos chegaram, em linhas geraes, aos resultados de Friedmann, julgamos desnecessario cital-as na integra, evitando, assim, alongar em demasia este capitulo.

## II

### *Argumentos dos que não acreditam na origem humana do bacillo de Friedmann, nem em possivel adaptação á tartaruga.*

Os resultados de Friedmann foram largamente combatidos nos seus varios pontos basicos.

A origem humana do bacillo, considerada de grande importancia, tanto pelo que diz respeito á sua nocividade para o homem, como pelo papel immunizante que poderia possuir, foi alvo de acirrada critica.

Os partidarios de Friedmann comparam o seu remedio com a vaccina de Jenner: o virus tuberculoso original do homem attenuado no organismo da tartaruga corresponderia ao virus da variola attenuado na vacca.

Estranhou-se inicialmente essa adaptação, pois as experiencias até então realizadas não permittiam uma conclusão segura. Emquanto alguns auctores acreditavam ter obtido uma adaptação do bacillo de Koch ao organismo de animaes pecilothermicos, tão intima que perderia a virulencia para a cobaia (Lubarsh, Herzog, Ramon e Ravaud, Bataillon, Dubard e Terre), outros, além de encontrarem sómente lesões muito discretas, notaram, ao contrario, a conservação da primitiva virulencia (Nicolas e Lesieur, Auché e Hobbs, Bertarelli e Bocchia).

Procurou-se verificar a questão. Tartarugas inoculadas com grandes doses de bacillos do typo humano não apresentaram lesões generalizadas e a primitiva virulencia do germe não foi modificada (Sion, Gottstein e Moriya). Por outro lado, em rãs inoculadas com bacillos mortos, verificaram-se formações granulosas, repletas de bacillos, identicas áquellas obtidas em rãs injectadas com bacillos vivos (Auché e Hobbs). Este ultimo facto chamou a attenção dos experimentadores que procuraram verificar si normalmente nesses animaes existiriam bacillos acido-resistentes e sob que condições estes poderiam pullular.

Os estudos de Weber e collaboradores trouxeram luz á questão, expondo em varias publicações do Serviço Sanitario Imperial da Alemanha os seguintes resultados de suas investigações: nos animaes de sangue frio existem normalmente acido-resistentes, saprophytos, quasi sempre inoffensivos para os seus hospedes, mas capazes de pullular em seus organismos sob certas condições. E' de suppor que, em muitas das experiencias realizadas, se isolassem esses bacillos apathogenos para a cobaia, e se interpretasse como sendo os da tuberculose hu-

mana attenuados. Os bacillos da tuberculose humana, injectados nos animaes de sangue frio, podem permanecer durante muito tempo vivos, mas sempre virulentos para a cobaia.

Referindo-se em particular ao bacillo de Friedmann, Weber affirmou que essa amostra nada tinha de extraordinario. Si esse bacillo apresenta a 37° caracteres culturaes quasi indistinguiveis dos de uma raça de bacillo da tuberculose dos mammiferos, não se trata de um caso isolado. Tal facto elle verificou muitas vezes nas 36 amostras de bacillos acido-resistentes de animaes de sangue frio que conseguiu isolar. O bacillo de Friedmann era manifestamente da mesma familia que os de Bataillon e Moeller. O apparecimento da tuberculose pulmonar nas tartarugas observadas era devido, não ao bacillo, mas ás tartarugas; as raças isoladas por Weber tambem determinavam lesões pulmonares nas tartarugas, lesões essas que tambem foram observadas nas rãs, porém em muito menor quantidade. Quando um animal de sangue frio morre com bacillos acido-resistentes nos seus organs, é preciso sempre procurar si não ha parasitas de outras especies e lesões. A morte só pode ser attribuida á infecção por acido-resistentes quando é verificada enorme pullulação de bacillos, conforme foi descripta por Ledoux-Lebard.

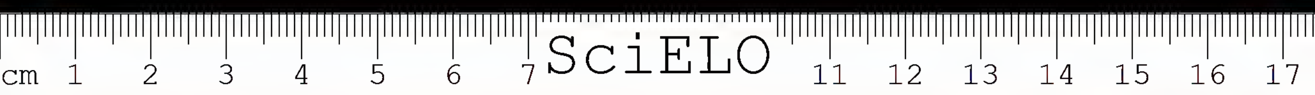
Os trabalhos de Weber tiveram grande repercussão, sendo suas idéas acceitas por varios experimentadores de nomeada (Calmette, L. Lange, Moeller) e suas verificações confirmadas por outros (Tsukiyama, Ianseo e Elfer, Moriya). Alguns auctores, entretanto, acreditam em uma adaptação completa (Piorkowski), que pode ser realizada lentamente (Sorgo e Suess), havendo talvez mesmo uma relação phylogenetica entre os bacillos da tuberculose dos mammiferos e os acido-resistentes dos animaes de sangue frio (Klemperer).

Entre os argumentos em que se basea a hypothese de Friedmann sobre a origem humana do seu bacillo, alem do facto de terem as tartarugas sido tratadas por um guarda tuberculoso, contam-se o seu bom desenvolvimento a 37° e ainda a semelhança das culturas com as do bacillo de Koch, o que não aconteceria geralmente com outros acido-resistentes isolados de animaes pecilothermicos. Conhecem-se, entretanto, observações de cultivo a 37° e de culturas semelhantes ás do bacillo de Koch entre acido-resistentes de animaes de sangue frio. Moeller, de uma tartaruga morta espontaneamente, isolou um acido-resistente que se desenvolveu muito bem a 37°, logo após o seu isolamento. São conhecidas, neste particular, as observações de Weber e Taute com os acido-resistentes das rãs e do musgo; as de Jakobitz, Keyser e Schmitz com os bacillos dos caracóes e as dos dois tuberculoides de Beeks.

L. Lange julga existir uma grande differença de comportamento das culturas dos dois bacillos, differença essa que impõe á amostra de Friedmann um logar entre os acido-resistentes saprophytas.

Entre outros argumentos levantados pelos auctores que não acceitam as idéas de Friedmann, conta-se o seguinte: o grande numero de bacillos observa-





dos nas lesões pulmonares da tartaruga de onde foram isolados, approxima-os dos acido-resistentes dos animaes de sangue frio, por isso que, com os bacillos da tuberculose dos mammiferos, o contrario é o que se verifica, isto é, a virulencia está na razão inversa da vegetabilidade (Weber e Taute).

Do mesmo modo, a circumstancia de ser o bacillo pathogenico para os animaes de sangue frio, desenvolvendo-se nelles com grande energia e invadindo rapidamente todos os organs, constitue outro argumento contrario a Friedmann, por isso que facto identico não se observa nos animaes inoculados com culturas de bacillos do typo humano, mesmo que se empreguem grandes dóses. Neste ponto ha um pormenor que tem sido levado em conta pelos partidarios de Friedmann para a prova de que o bacillo é de origem humana. Dizem elles que nem todos os auctores têm conseguido infectar certos animaes de sangue frio, principalmente tartarugas e sapos, pelo bacillo de Friedmann (Rabinowitsch, Schroeder, L. Lange). Todavia, o argumento não procede, pois é sabido que os bacillos acido-resistentes diminuem de virulencia á medida das passagens pelos meios de cultura, conforme resalta de experiencias do proprio Friedmann, que não conseguiu infectar uma tartaruga com culturas de varios repiques, 10 meses após o isolamento do seu bacillo.

L. Lange, em sua critica, julga que é muito inverosimil que a tartaruga de Friedmann se contagiasse pelo guarda tuberculoso, não sendo possivel que as tartarugas occupassem um logar de excepção entre os animaes de sangue frio.

---

A supposição original de ser o bacillo de Friedmann de procedencia humana fez receiar que no homem, por uma causa extranha, elle readquirisse a sua primitiva virulencia. Este receio estava de accordo com certas verificações experimentaes que demonstravam a capacidade do bacillo do typo humano de provocar a tuberculose generalizada da cobaia, mesmo após longa permanencia no organismo dos animaes de sangue frio.

As primeiras verificações realizadas (Libbertz e Ruppel, Orth e Rabinowitsch, Rabinowitsch, Westenhoffer, Brauner, Meinicke), mostravam um certo poder pathogenico do bacillo para a cobaia, o que causou celeuma entre os pesquisadores, acreditando mesmo alguns (Rabinowitsch, Calmette) que no remedio de Friedmann se encontravam alguns bacillos do typo humano. Conseguiu-se tambem a exaltação da virulencia da amostra de Friedmann por passagens successivas em cobaias (Schroeder, Kaufmann) e isto deu margem para se pensar ser o bacillo uma forma de transição entre os acido-resistentes de sangue frio e os da tuberculose dos mammiferos.

O que parece mais ou menos assentado actualmente é que o bacillo de Friedmann não é pathogenico para a cobaia (Piorkowski, Baumann, Ehrlich, L.

Lange, Kruse, Neufeld, Kolle e Schlossberger e outros). A sua acção sobre os animaes de sangue quente é identica á dos demais acido-resistentes de sangue frio (Neufeld), podendo produzir nodulos que regridem em pouco tempo, tal como se obtem por inoculação de certos corpos extranhos (Kruse e outros), donde se conclue não ser possivel a adaptação do bacillo ao organismo dos animaes de sangue quente.

Procurou-se tambem verificar si no organismo humano havia probabilidades de augmentar de virulencia a amostra de Friedmann (Barnes, Rabinowitsch, Neumann, Bischoff e Schmitz, Fromme), não se tendo conseguido resultados positivos.

O bacillo de Friedmann tambem foi estudado no que diz respeito á acção de sua tuberculina. Esse producto mostra-se muito menos activo para as cobaias tuberculosas (L. Lange, Dietrich e outros) do que a tuberculina extrahida dos bacillos de Koch, tal como acontece com as chamadas paratuberculinas (Loewenstein, Weber). Os animaes preparados com o bacillo de Friedmann, do mesmo modo que os animaes preparados com outros acido-resistentes de sangue frio, reagem á tuberculina homologa, mas não á tuberculina preparada com os bacillos do typo humano ou bovino (B. Lange, Furth, Meyer, Selter, Lust).

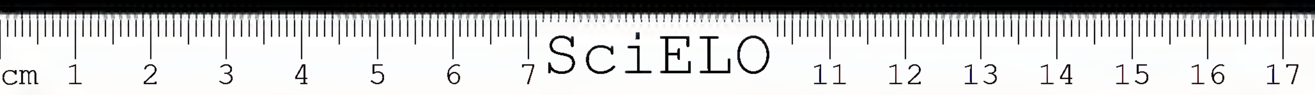
Essa ausencia de effeito allergico homologo para os animaes tuberculosos é argumento serio contra a hypothese da adaptação do bacillo humano ao organismo da tartaruga, não restando, pois, duvida de que o germe deve ser incluido entre os acido-resistentes dos animaes de sangue frio, não passando, assim, de um saprophyta para os animaes de sangue quente (Selter, Lust).

---

As provas de protecção para a cobaia e outros animaes, expostas por Friedmann em seus primeiros trabalhos, não são de tal grão e natureza que permittam, por si sós, avaliar do valor preventivo da vaccina. As cobaias e outros animaes vaccinados pelo remedio de Friedmann parecem apresentar diminuta resistencia á inoculação do virus (Libbertz e Ruppel, Uhlenhuth, L. Lange, Schroeder, Kuchner, Neufeld, etc.), o que tambem acontece com outros animaes vaccinados pelos acido-resistentes de sangue frio (Neufeld), morrendo todos, finalmente, de tuberculose generalizada.

No que diz respeito ao valor curativo do remedio, pesquisas experimentaes foram realizadas em cobaias tuberculosas, não tendo sido verificado effeito favoravel, parecendo mesmo que, em certos casos, as injecções repetidas de bacillo da tartaruga activaram a marcha da tuberculose (Kolle e Schlossberger).





## PARTE EXPERIMENTAL

I — **O bacillo de Friedmann estudado:** a) *isolamento da nossa cultura;* b) *caracteres culturaes, morphologicos e biologicos:* c) *pathogenicidade para os animaes de sangue quente;* d) *pathogenicidade para os animaes de sangue frio;* e) *producção da tuberculina.*

a) *Isolamento da nossa cultura* — A amostra do bacillo de Friedmann que estudámos foi isolada por semeadura, em meios apropriados (meio de ovo de Dorset, agar-glycerinado e batata-glycerinada), da vaccina preparada por Friedmann e da qual foram enviadas ao Instituto algumas empolas.

Os tubos semeados foram mantidos na temperatura de 26°. Em 48 horas já se notava o desenvolvimento de pequenas colonias na superficie dos meios. A primeira sub-cultura foi feita decorridos 5 dias, e a segunda depois de 10 dias. Os tubos da 3.ª sub-cultura foram divididos em 2 grupos, sendo um conservado na temperatura de 26° e outro na de 37°.

b) *Caracteres culturaes, morphologicos e biologicos.* — As culturas obtidas, desde a semeadura original, mostraram-se puras e seu aspecto nos differentes meios apresentou differença, conforme o desenvolvimento se dava a 26°, ou a 37°. Nas culturas mantidas a 26°, é o seguinte:

*Batata glycerinada*: Inicia-se o desenvolvimento em 3 a 4 dias. Nota-se um inducto cremoso e ligeiramente rugoso, cobrindo toda a superficie do meio; pellicula na superficie do caldo collocado na parte inferior do tubo e que facilmente se destaca, cahindo no fundo do tubo (fig. 1, c). Depois de algumas sub-culturas o aspecto é mais secco e rugoso, assemelhando-se mais com o bacillo da tuberculose humana.

*Meio ovo de Dorset*: Inducto cremoso e esbranquiçado, muito ligeiramente rugoso (fig. 1).

*Gelose glycerinada*: Desenvolvimento abundante, dando um inducto esbranquiçado, cremoso e rugoso por toda a superficie (fig. 1, b). As colonias isoladas são arredondadas, rugosas, com o centro ligeiramente elevado e a peripheria de contornos irregulares.

*Gelose commum*: Desenvolvimento insignificante, quasi nullo no fim de 10 dias.

*Gelose-soro*: Inducto ligeiro, de aspecto mais pastoso, não se observando rugosidades.

*Caldo commum*: No fim de 10 dias, ligeira pellicula na superficie, cahindo facilmente e depositando-se no fundo do tubo, sem turvar o meio.

*Caldo glycosado a 1%*: Como no caldo commum, mas com maior desenvolvimento.

*Caldo glycerinado a 5%* (em balões de larga superficie): Já em 24 hs. se observa uma pellicula fina occupando vasta zona da superficie do meio. O desenvolvimento da pellicula se accentua, occupando em poucos dias toda a superficie. A pellicula é fragil, com ligeira agitação se rompe, cahindo no fundo do frasco. A substituição por nova pellicula logo se processa. O caldo permanece transparente (fig. 3). Esta cultura, após 40 dias, foi utilizada para o preparo da tuberculina do bacillo de Friedmann.

As culturas desenvolvidas a 37° differem um pouco do aspecto descripto. Nas primeiras sub-culturas o desenvolvimento é um pouco mais lento; nas repicagens seguintes de culturas oriundas dessa temperatura, já é mais rapido. As culturas têm o aspecto menos cremoso, são mais seccas e apresentam-se mais rugosas nos meios solidos, taes como (fig. 2), batata e gelose glycerinadas, approximando-se mais, na apparencia, das culturas do bacillo da tuberculose. Nos meios liquidos, o aspecto é mais ou menos identico ao já descripto.

*Morphologia do bacillo*: A amostra estudada apresenta-se como pequeno bastonete alcool-acido-resistente e que, pela sua morphologia e propriedades tinctoriaes (coloração de Ziehl-Nielsen) se confunde com as dos bacillos tuberculosos. Pelo methodo de Fontes, verifica-se a existencia de granulações pequenas no corpo bacillar. Os germes, nos esfregaços de culturas, se agrupam em massas, não se observando qualquer disposição caracteristica.

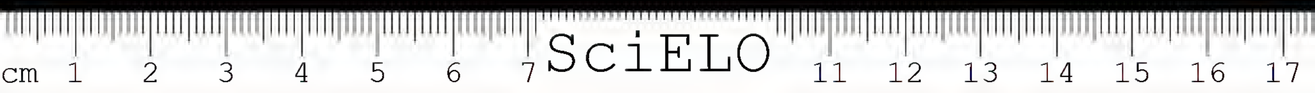
## PATHOGENICIDADE

O estudo da pathogenicidade do bacillo de Friedmann foi realizado em animaes de sangue quente (cobaias e coelhos) e em animaes de sangue frio (cobras, rãs, lagartos, sapos, tartarugas).

Os resultados obtidos pelas inoculações desses differentes animaes, empregando-se doses diversas, ás vezes enormes, do bacillo e por differentes vias, dão bem uma idéa da virulencia do germe. Mostraremos com algum pormenor os resultados obtidos nos dois grupos de animaes, indicando ao mesmo tempo o comportamento dos animaes injectados em relação á tuberculina preparada com o proprio bacillo e com o bacillo da tuberculose humana e, a seguir, o comportamento de uma serie de animaes inoculados em relação á infecção tuberculosa experimental.

Para o estudo da pathogenicidade do bacillo de Friedmann empregámos culturas de 12 dias em batata glycerinada. O inducto microbiano retirado da superficie do tubo e collocado em papel de filtro esterilizado, era secco e pesado ainda humido, sendo as doses injectadas avaliadas quanto ao peso da cultura





assim tratada, feitas as emulsões convenientes num mesmo volume de solução physiologica.

c) *Pathogenicidade para os animaes de sangue quente.* — Numerosas foram as cobaias e coelhos inoculados por differentes vias (sub-cutanea, peritoneal, venosa, testicular), com doses de bacillos de Friedmann desde 0,0001 até 0.500. Muitos foram submettidos, tempos depois de inoculados, a differentes provas em relação ás tuberculinas humana e do bacillo de Friedmann e á infecção tuberculosa experimental. As desta ultima serie serão estudadas em capitulo aparte.

COBAIA N.° 81 — Inoculada em 23 de janeiro de 1930, por via peritoneal, com 0,500 mgrs. do bacillo de Friedmann.

Apesar de inoculada por via peritoneal, observou-se, depois de 5 dias, um pequeno nodulo sub-cutaneo, ao nivel do ponto de penetração da agulha, e que desappareceu no fim de alguns dias.

Em 26 de fevereiro, foi submettida á prova da tuberculina humana. Injectou-se 1cc. de tuberculina bruta por via sub-cutanea, e ao mesmo tempo que a cobaia tuberculosa n.° 365, e a cobaia normal n.° 493, como testemunhas.

Como resultado da inoculação, as cobaias 81 e 493 nada de anormal apresentaram, enquanto que a cobaia n.° 365, testemunha tuberculosa, morreu em menos de 24 horas.

Em 28 de fevereiro (35 dias após a inoculação), foi sacrificada e necropsiada: ganglios inguinaes não augmentados de volume e de aspecto normal. Na cavidade peritoneal notou-se um nodulo epiploico contendo pús caseoso. No figado observaram-se raros pequenos nodulos brancos, nas bordas do orgam e mesmo no parenchyma. Baço augmentado de volume e adherente á parede. Pulmões macroscopicamente normaes. Os esfregaços feitos com substancias do nodulo epiploico mostraram a presença de bacillos acido-resistentes de aspecto normal e em via de desintegração. Os esfregaços com nodulos do figado mostraram tambem bacillos acido-resistentes em desintegração.

A semeadura do pús do nodulo epiploico deu em resultado o reisolamento do bacillo.

A curva de peso desta cobaia pode ser verificada no graphico annexo (graphico 1, letra a).

COBAIA N.° 323 — Inoculada em 23 de janeiro de 1930 com 0,500 mgrs. de bacillos de Friedmann, por via sub-cutanea.

No ponto de inoculação formou-se um grande nodulo que, 5 dias depois, se abriu, dando sahida a pús caseoso. O exame microscopico desse pús mostrou numerosos bacillos acido-resistentes, de estructura granular, com notavel tendencia a reunir-se em agglomerados. Esses germes foram tambem encontrados no interior dos leucocytos.

Em 28 de janeiro, com esse pús, foi inoculada a cobaia 221, por via sub-cutanea. Esta cobaia nada de anormal apresentou, nem mesmo nodulo no ponto de inoculação e foi sacrificada em 29 de maio (após 4 meses), á necropsia mostrando os organs de aspecto normal. Os esfregaços não revelaram a presença de bacillos acido-resistentes.

Em 12 de março, a cobaia 323 foi inoculada com 1cc. da tuberculina concentrada preparada com o bacillo de Friedmann.

Nesse dia, á tarde, sua temperatura era de 38,8°. No dia seguinte a temperatura foi de 39,3° pela manhã e 39,5° á tarde; em 14 de março a temperatura foi de 39,0° pela manhã e 38,4° á tarde. Verificou-se, assim, uma ligeira reacção á tuberculina homologa, o que não se verificou com a cobaia 250, testemunha normal, injectada nas mesmas condições.

Em 15 de março, isto é, 52 dias após a inoculação, a cobaia foi sacrificada e necropsiada: verificou-se no ponto de inoculação uma ulceração ainda não completamente cicatrisada e um empastamento com maior adherencia da pelle.

Ganglios satellites completamente normaes. Na cavidade abdominal não se notou derrame, nem se viram ganglios augmentados de volume. O figado, de apparencia normal, mostrou apenas pequenas granulações esbranquiçadas. Baço nas mesmas condições. Pulmões de aspecto normal.

Os esfregaços feitos para a pesquisa de bacillos acido-resistentes foram negativos, tanto com o material do tecido sub-cutaneo do ponto de inoculação, como com o material dos ganglios satellites, polpa do figado, baço e pulmões.

A curva de peso dessa cobaia pode ser verificada no graphico annexo (graphico 1, letra b).

Cobaia N.° 143 — Inoculada em 23 de janeiro com 0.100 mgrs. de bacillo de Friedmann, por via peritoneal.

Nada de anormal apresentou, a não ser uma perda de peso nos primeiros dias que se seguiram á inoculação, depois do que estacionou mais ou menos, para começar a augmentar após o primeiro mez, como se vê no graphico annexo (graphico 1, letra c). Foi sacrifica-

da e necropsiada em 15 de março (52 dias após a inoculação): nenhuma alteração poude ser verificada e os esfregaços não revelaram bacillos.

Cobaia N.° 313 — Inoculada em 23 de janeiro de 1930 com 0,001 mgr. de bacillo de Friedmann, por via testicular.

Nada de anormal apresentou. O peso iniciou a sua curva ascendente depois do primeiro mês, como se vê no graphico annexo (graphico 1, letra d).

Foi sacrificada em 18 de março (55 dias após a inoculação) e necropsiada: o testiculo inoculado mostrou-se ligeiramente augmentado, os esfregaços feitos não revelaram bacillos; figado com pequenos nodulos esbranquiçados, mas os esfregaços negativos; baço com pequenas manchas esbranquiçadas contrastando com a côr vermelha do parenchyma, esfregaços tambem negativos; pulmões de aspecto normal, mostrando os esfregaços, cuidadosamente examinados, um unico amontoado de bacillos; ganglios tracheo-bronchicos de aspecto normal e negativa a pesquisa de bacillos.

Cobaia N.° 190 — Em 23 de janeiro recebeu 0,001 mgr. de bacillos, por via peritoneal.

Nada de anormal apresentou, mantendo-se inalterado o peso durante as duas semanas e entrando depois em curva ascendente (graphico 1, letra e). Foi sacrificada em 20 de março (após 57 dias da inoculação). A necropsia e a pesquisa de bacillos acido-resistentes nos organs e ganglios foram completamente negativas.

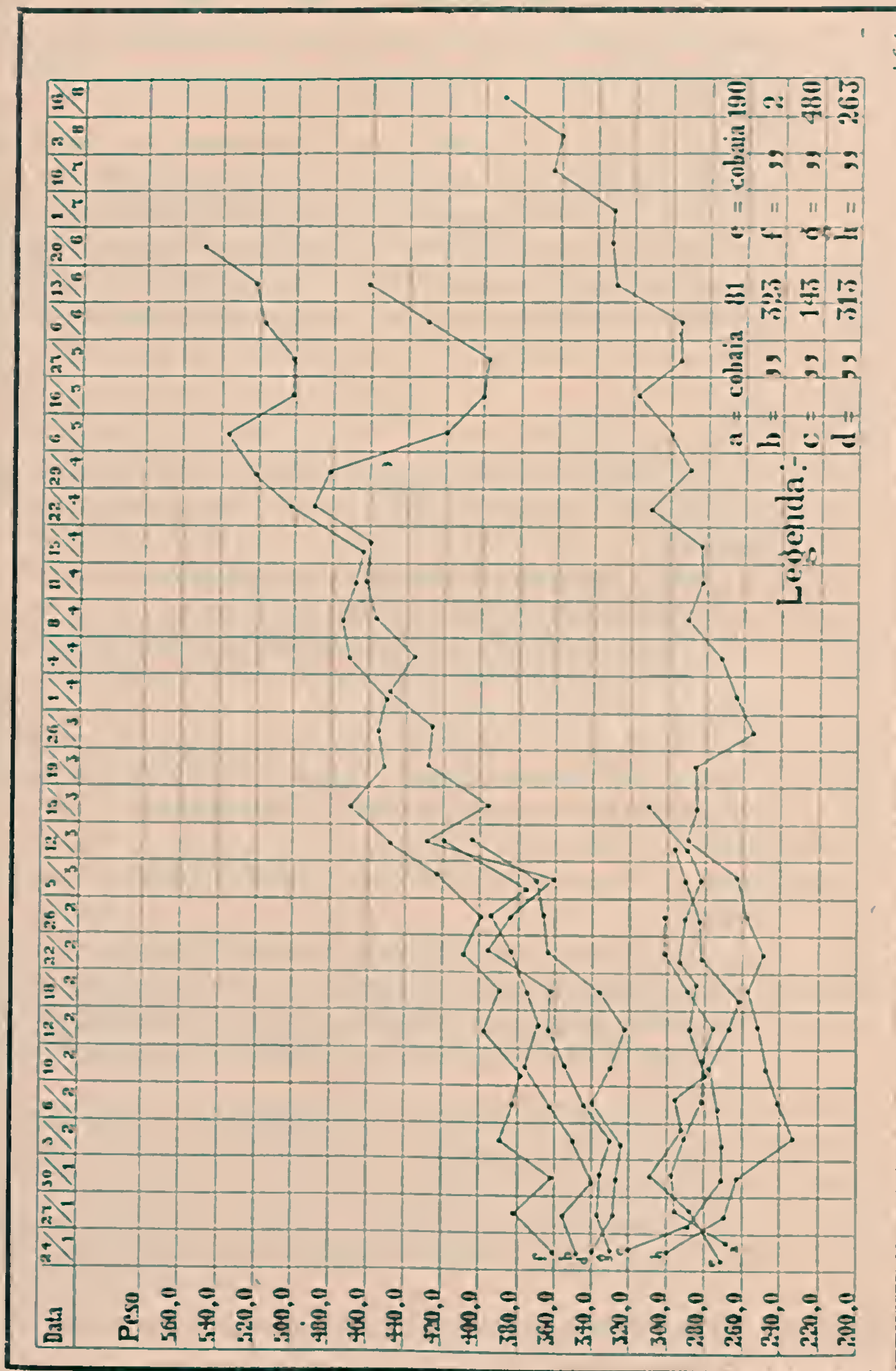
Cobaia N.° 2 — Em 23 de janeiro recebeu, por via sub-cutanea, 0,0001 mgr. de bacillos.

Nenhuma manifestação apresentou e o peso entra em curva ascendente (graphico 1, letra f).

20 de maio — Foi submettida á prova intradermica da tuberculina, recebendo, do lado direito, a tuberculina humana e, do lado esquerdo, a tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann, não reagindo a nenhuma.

Em 24 de junho (após 160 dias da inoculação) foi sacrificada, sendo negativas a necropsia e pesquisa de bacillos nos esfregaços dos differentes organs.

Cobaia N.° 480 — Inoculada em 23 de janeiro com 0,100 mgr. de bacillos, por via sub-cutanea.


Graphico dos pesos de cobaias inoculadas com o B. de Friedmann
Data
Peso
560,0
540,0
520,0
500,0
480,0
460,0
440,0
420,0
400,0
380,0
360,0
340,0
320,0
300,0
280,0
260,0
240,0
220,0
200,0
Legenda:
a = cobaia 81
b = " 393
c = " 143
d = " 313
e = cobaia 190
f = " 2
g = " 480
h = " 263

Após 5 dias, observou-se, no ponto de inoculação, um nodulo que desappareceu no fim de alguns dias. O estado geral do animal manteve-se normal e em ascenção a sua curva de peso (graphico 1, letra g).

31 de março — Inoculada, por via sub-cutanea, com 1cc. de tuberculina humana, não mostrando qualquer reacção febril.

Em 20 de maio foi submettida á prova intradermica das tuberculinas humana e do bacillo de Friedmann, não reagindo a nenhuma.

Em 25 de julho foi sacrificada (após 151 dias da inoculação) e necropsiada: nada de anormal se verificou para o lado dos organs, sendo negativa a pesquisa de bacillos acido-resistentes.

Cobaia N.º 263 — Recebeu, em 23 de janeiro, por via testicular, 0,100 mgr. de bacillos.

Na primeira e segunda semanas se observou uma perda de peso que depois se manteve e entrou em curva ascendente (graphico 1, letra h).

Em 31 de março, foi inoculada por via sub-cutanea com 1cc. da tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann.

Como consequencia, notou-se uma ligeira reacção febril.

Em 20 de maio, foi submettida á prova intradermica, não reagindo a nenhuma das tuberculinas.

Em 25 de agosto (após 212 dias da inoculação) foi sacrificada. A' necropsia viram-se ganglios e organs perfeitamente normaes. Os esfregaços para a pesquisa de bacillos foram negativos.

Coelho N.º 336 — Inoculado em 23 de janeiro com 0,500 mgr., por via peritoneal.

Em 6 de fevereiro amanheceu morto, sendo necropsiado. Observou-se pequena quantidade de liquido no peritoneo; figado congesto com alguns nodulos esbranquiçados; baço de aspecto normal; pulmões apenas congestos; ganglios abdominaes e thoracicos de aspecto normal.

A pesquisa de bacillos acido-resistentes nos esfregaços dos diversos organs foi negativa, revelando a presença de coccideos em grande quantidade no figado.

As culturas para reisolamento do bacillo, feitas com o sangue do coração, liquido peritoneal e nodulo hepatico foram negativas.

Coelho N.º 420 — Inoculado em 23 de janeiro, por via venosa, 0,001 mgr. de bacillos de Friedmann.

Nada de anormal foi observado, mantendo-se o coelho em curva ascendente de peso.

Em 29 de maio foi sacrificado (após 128 dias), sendo negativa a necropsia, assim como a pesquisa de bacillos acido-resistentes.

Destas inoculações experimentaes para a verificação da pathogenicidade do bacillo de Friedmann para as cobaias e coelhos, verifica-se, em resumo, que este micro-organismo é destituido de virulencia para estes animaes, mesmo com o emprego de dóses elevadas (0,500). O germe pode determinar apenas lesões passageiras localizadas no ponto de inoculação e, por via peritoneal, uma reacção epiploica onde se encysta e de onde é eliminado no fim de certo tempo, sem prejuizo para o estado geral do animal.

Nos animaes sacrificados antes de 35 dias, verifica-se a presença do germe, que pode ser reisolado com facilidade do ponto onde se localiza, embora morphologicamente se mostre já alterado. Após 52 dias da inoculação, já não se verifica, a não ser raramente, a presença de bacillos nos animaes infectados; com maior lapso de tempo esta pesquisa é sempre negativa.

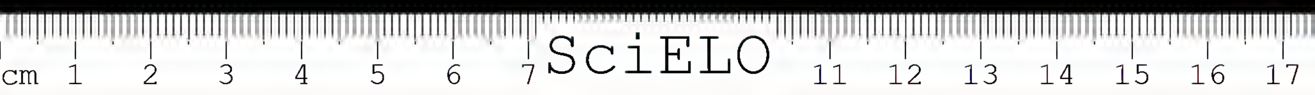
Tem-se a impressão de que os germes inoculados, innocuos, se comportam para esses animaes como corpos extranhos ou germes saprophytas que determinam apenas uma reacção no ponto de inoculação, com encystamento, e que são a pouco e pouco destruidos, absorvidos ou eliminados, pelo organismo dos animaes. Estas nossas observações confirmam as de muitos experimentadores que estudaram o germe de Friedmann. Sobre o assumpto Collo assim se exprime: "E' provavel que a acção destes bacillos sobre as cobaias seja devida, não a uma multiplicação nos tecidos, mas a uma simples irritação mecanica ou chimica (por proteinas heterologas e lipoides) dos germes injectados em dóses massiças".

d) *Pathogenicidade para os animaes de sangue frio.* — Oriundo de um animal de sangue frio, a tartaruga, o bacillo de Friedmann deveria manifestar mais intensamente a sua acção pathogenica sobre estes animaes. Friedmann assim o disse: o bacillo se desenvolve com grande energia no organismo dos animaes de sangue frio, invadindo rapidamente todos os organs.

Sem discutir os resultados que a respeito obtiveram outros auctores, mostraremos a seguir os das nossas verificações pessoaes. Para essas experiencias usámos cobras, lagartos, rãs, sapos e tartarugas do mar, sendo que as tartarugas nos foram gentilmente fornecidas pelo distincto amigo Dr. Antonio C. Alves de Lima, que, assim, mostrou uma alta comprehensão do valor de estudos experimentaes dessa natureza.

Alguns protocollos que se seguem mostram os resultados:





GIBOIA I — Inoculada por via sub-cutanea com 0,500 mgr. de bacillos de Friedmann, em 23 de janeiro de 1930.
(*Constrictor constrictor*)

Amanheceu morta em 13 de fevereiro de 1930, sendo necropsiada: observaram-se placas hemorrhagicas na folha parietal do peritoneo, principalmente no terço posterior, observando-se por transparencia granulações esbranquiçadas de tamanho variavel; nodulos branco-amarellados na face interna do peritoneo e disseminados por toda a serosa, vendo-se em certos pontos massas maiores, contendo substancia caseosa.

Ganglios mesentericos augmentados de volume e cheios de substancia caseosa. No tecido peri-tracheal notaram-se tambem placas hemorrhagicas e ganglios augmentados de volume e caseosos. Pulmões fortemente congestos, principalmente no apice, onde existia uma zona infarctada. Figado com pequenas granulações disseminadas por todo o orgam.

A pesquisa de bacillos acido-resistentes foi positiva nos esfregaços feitos com sangue do coração, figado, ganglios e pulmões.

Com os ganglios caseosos foi feita uma emulsão e inoculadas a giboia IV (vide adeante) e a cobaia 477. Esta ultima não apresentou, nos dias que succederam á inoculação, a menor manifestação pathologica. Submettida posteriormente á prova intradermica com as tuberculinas humana e do bacillo de Friedmann, não reagiu a nenhuma. Sacrificada em 8 de novembro de 1930, nada foi observado á necropsia.

A' semeadura da massa caseosa de um ganglio da giboia I, em gelose glycerinada e batata, reisolou-se o bacillo em cultura pura. Essas culturas foram posteriormente inoculadas na tartaruga V, no lagarto I e no camaleão III, cujos protocollos serão indicados adeante.

GIBOIA II — Em 23 de janeiro de 1930, recebeu 0,100 mgr. de bacillos de Friedmann.

Em 12 de março, foi inoculada com 1cc. da tuberculina concentrada preparada com o bacillo de Friedmann. A 15 de março nada apresentou de anormal, sendo sacrificada e necropsiada: observaram-se alguns ganglios augmentados de volume; organs de apparencia normal. Esfregaços de ganglios mostraram grande numero de bacillos acido-resistentes, raros nos organs.

GIBOIA III — Inoculada por via peritoneal com 0,100 mgr. de bacillos em 23 de janeiro.

Amanheceu morta em 8 de julho de 1930. A' necropsia não se notou grande alteração macroscopica dos organs, a não ser um

ganglio infiltrado e augmentado de volume, ao nivel do figado, proximo á vesicula biliar.

Esfregaços dos organs, pobres em bacillos acido-resistentes.

GIBOIA IV — Inoculada em 13 de fevereiro com 2cc. de emulsão de ganglios mesentericos caseosos da giboia I, por via sub-cutanea.

Amanheceu morta em 17 de fevereiro, observando-se na necropsia edema hemorrhagico na zona do ponto de inoculação e vizinhanças, onde se viu tambem uma massa amarellada de aspecto caseoso; varios ganglios pouco augmentados de volume na parte terminal da trachéa e na base do coração; adherencia do peritoneo ás visceras no ponto de inoculação; no figado notaram-se numerosas petechias disseminadas por todo o orgam; pulmão congestionado na base, onde se notou edema gelatinoso; derrame sero-hemorrhagico do pericardio. Os esfregaços do figado e sangue do coração não mostravam bacillos acido-resistentes, observando-se bacillos bipolares e coccos.

BOIPEVA I (*Ophis merremii*) — Recebeu, por via sub-cutanea, 0,001 mgr. de bacillos de Friedmann, em 23 de janeiro.

Amanheceu morta em 25 de fevereiro de 1930. Necropsia: congestão da parte superior do pulmão, figado com pequenas granulações esbranquiçadas disseminadas por todo o orgam, notando-se uma grande, esbranquiçada, logo abaixo da vesicula biliar.

Esfregaços positivos.

BOIPEVA II — Recebeu, por via sub-cutanea, em 23 de janeiro, 0,100 mgr. de bacillos.

Em 12 de março foi inoculada com 1cc. de tuberculina humana.

Amanheceu morta em 14 de março e á necropsia encontrámos, no peritoneo, pequenas granulações esbranquiçadas; os ganglios mesentericos mostravam-se augmentados de volume e de aspecto caseoso. No figado e pulmão nada de anormal macroscopicamente.

Os esfregaços dos ganglios mesentericos mostraram grande numero de bacillos acido-resistentes, formando grandes massas; o do ganglio cardiaco mostrou tambem bacillos, porem em menor numero; nos do figado lográmos encontrar raros bacillos acido-resistentes.

BOIPEVA III — Inoculada por via peritoneal com 0,100 mgr. de bacillos de Friedmann em 23 de janeiro de 1930.





Amanheceu morta em 28 de janeiro. A' necropsia não se observaram lesões macroscopicas dignas de nota, a não ser um pequeno augmento dos ganglios renaes.

Os esfregaços dos organs e ganglios deram resultado positivo. A cultura do sangue do coração foi positiva.

LAGARTO I (*Polychrus acutirostris*) — Em 23 de janeiro, foi inoculado por via sub-cutanea com 0,100 mgr. de bacillos. Morte na tarde de 24 de janeiro. A' necropsia observavam-se alguns nodulos no peritoneo; organs apparentemente normaes.

Esfregaços positivos. Cultura do sangue do coração positiva.

LAGARTO II — Inoculado em 27 de março com 0,10 mgr. de bacillos reisolados da giboia I, cultura em batata glycerinada.

Morte em 2 de abril de 1930. A' necropsia não foram observados phenomenos anormaes. Os esfregaços do figado, pulmão e sangue revelaram grande numero de bacillos.

LAGARTO III — Inoculado em 27 de março com 0,30 mgr. de bacillos reisolados da giboia I.

Amanheceu morto em 4 de abril de 1930. A' necropsia os organs apresentavam-se de aspecto normal; os ganglios do mesenterio augmentados ligeiramente de volume.

Esfregaços positivos. Cultura do sangue do coração positiva.

RÃ I (*Hyla faber*) — Recebeu 0,500 mgr. de bacillos de Friedmann em 23 de janeiro de 1930.

Amanheceu morta em 25 de janeiro. A' necropsia notou-se exsudato peritoneal ligeiramente hemorrhagico; os organs, figado principalmente, recobertos por uma camada de fibrina, de aspecto caseoso; no figado e pulmão, raras e pequenas granulações.

Os esfregaços dos organs e sangue do coração mostraram numerosissimos bacillos.

As culturas do sangue do coração e liquido peritoneal foram positivas.

RÃ II — Em 25 de janeiro de 1930, foi inoculada com 0,001 de bacillos.

Amanheceu morta em 7 de abril e á necropsia não foram observadas lesões macroscopicas.

Todos os esfregaços feitos com organs e sangue do coração foram positivos.

RÃ III — Inoculada, por via peritoneal, com 0,001 mgr. de bacillos de Friedmann, em 23 de janeiro de 1930.

Em 12 de março, inoculada com 1cc. de tuberculina de Friedmann. Morte em 20 minutos após a inoculação da tuberculina.

A' necropsia notou-se liquido na cavidade peritoneal, amarellado e ligeiramente sanguinolento; pulmão congesto; figado macroscopicamente normal.

Os esfregaços mostraram grande numero de bacillos.

RÃ IV — Inoculada por via intra-muscular com 0,100 mgr. de bacillos em 23 de janeiro de 1930.

Morte na tarde de 24 de janeiro. A' necropsia exsudato peritoneal e phenomenos de peritonite com deposito de fibrina; organs de aspecto normal.

Todos os esfregaços revelaram grande numero de bacillos.

RÃ V — Em 23 de janeiro de 1930, recebeu 0,100 mgr. de bacillos.

Na manhã de 28 de janeiro apresentou-se em máo estado.

A pelle do dorso de amarello pallido passou a ennegrecida com manchas esbranquiçadas; no ventre observaram-se manchas avermelhadas, denotando inflammação.

Sacrificada, á necropsia notou-se adherencia da pelle aos musculos, com desapparecimento do sacco lymphatico em certos pontos; exsudato peritoneal presente; os organs não mostraram lesões macroscopicas.

Os esfregaços dos organs, liquido peritoneal e sangue do coração foram positivos. Culturas do sangue do coração positivas.

RÃ VI — Em 23 de janeiro de 1931, recebeu, por via peritoneal, 0,100 mgr. de bacillos.

Amanheceu morta a 25 de janeiro. A' necropsia não se observaram lesões macroscopicas dignas de nota.

Os esfregaços dos organs e sangue do coração mostraram um grande numero de bacillos acido-resistentes.

RÃ VII — Inoculada por via peritoneal com 0,100 mgr. de bacillos, em 23 de janeiro de 1930.

Amanheceu morta em 25 de janeiro. A' necropsia notou-se exsudato peritoneal sero-fibrinoso e os orgams de aspecto mais ou menos normal, com deposito de fibrina na superficie.

Todos os esfregaços mostraram um grande numero de bacillos.





RÃ VIII — Inoculada em 25 de fevereiro de 1930 com 0,05 mgr. de bacillos, reisolados da giboia I.

Em 12 de março foi inoculada com 1 cc. de tuberculina de Friedmann.

Morte em 30 minutos após a inoculação da tuberculina. A' necropsia: exsudato hemorrhagico na cavidade; no epiploon notaram-se numerosas granulações amarelladas; pulmão congesto.

Todos os esfregaços mostraram numerosos bacillos acido-resistentes.

TARTARUGA V (*Chelone mydas*) — Inoculada em 27 de março com 0,060 mgrs. de bacillos de Friedmann, reisolados da giboia I (4.º repique em batata glycerinada).

Amanheceu morta em 21 de maio. A' necropsia: derrame seroso na pleura esquerda, amarello citrino e um tanto viscoso; ganglios de aspecto normal; no figado um pequeno nodulo esbranquiçado, maior que a cabeça de um alfinete. Pulmão com pequenos nodulos esbranquiçados.

Sómente os esfregaços com o nodulo do figado e com a polpa deste orgam foram positivos.

TARTARUGA VI — Inoculada por via muscular com 2 tubos de cultura de bacillo de Friedmann em batata glycerinada, em 16 de agosto de 1930.

Amanheceu morta em 23 de setembro. A' necropsia não se notaram lesões para o lado dos organs.

Os esfregaços com polpa do figado mostraram poucos bacillos e os demais foram negativos.

TARTARUGA VII — Em 16 de agosto foi inoculada com 2 tubos de cultura de bacillo de Friedmann em batata glycerinada.

Amanheceu morta em 9 de outubro de 1930. A' necropsia não se notaram lesões para o lado dos organs; na folha parietal do peritoneo, 2 pequenos nodulos.

Os esfregaços do figado, pulmão e do nodulo peritoneal mostraram bacillos acido-resistentes.

A pathogenicidade do bacillo de Friedmann para os animaes de sangue frio mostra-se um tanto irregular. Enquanto que nas rãs e lagartos se observou uma invasão immediata de todos os organs com desenvolvimento abundante de bacillos, nas tartarugas e em certas serpentes essa invasão mostrou-se muito menos intensa.

As lesões macroscopicas dos organs só foram encontradas na giboia I. Nas tartarugas e em outros animaes houve quasi que completa ausencia. Alguns

cortes praticados com o figado da giboia I mostraram zonas de necrose espalhadas por todo o orgam e amontoados de bacillos acido-resistentes. Em cortes de figado de outros animaes foram encontrados grupos de bacillos e, por vezes, as cellulas mais proximas em necrose.

Os factores tempo e dóse parece-nos que pouco influiram na formação de lesões extensas e incompativeis com a vida. As tartarugas e certas serpentes, inoculadas com grandes dóses e resistindo á infecção por largo espaço de tempo, não apresentaram á necropsia lesões apreciaveis.

Temos a impressão de que o factor individual muito concorre para esses resultados, tal como pensam Weber e Taute; o factor especie tambem parece exercer importante papel no caso. As nossas tartarugas não apresentaram lesões de extensão tal que pudessem ser responsabilizadas pela morte desses animaes. As condições anormaes de vida por que passaram no laboratorio explicam melhor o desfecho lethal.

Para rãs e lagartos a pathogenicidade foi evidente, com a invasão de todos os organs e reproducção abundante do bacillo.

e) *Producção da tuberculina.* — Para o estudo da actividade da tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann realizámos pesquisas comparativas com a tuberculina do typo humano, usando animaes de sangue quente e sangue frio, e provas sub-cutanea e intra-dermica.

Para o preparo da tuberculina usámos cultura de 40 dias em caldo glycerinado a 5 %, mantida a 26°. Concentrámos em banho-maria até reduzir de 10 vezes o volume primitivo.

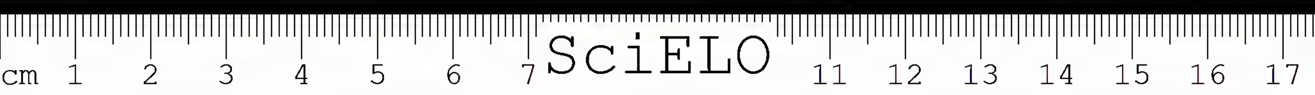
Para as provas por via sub-cutanea, a tuberculina foi usada em natureza e injectada na dóse de 1cc. e para as provas por via intra-dermica foi diluida a 1/10 e inoculada na dóse de 0,1 cc..

Nesta parte do nosso estudo daremos sómente os resultados obtidos com a tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann e com o bacillo tuberculoso do typo humano; em capitulo aparte, estudaremos as provas cruzadas que realizámos.

Os quadros 1 e 2 resumem os resultados dessas pesquisas.

O estudo desses quadros mostra-nos que a tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann se revelou activa para as rãs previamente inoculadas, matando-as em poucos minutos, enquanto que a rã testemunha supportou perfeitamente a acção toxica da tuberculina; á necropsia, os esfregaços feitos com a polpa dos organs das rãs III e VIII mostraram um grande numero de bacillos, donde se explica a hyper-sensibilidade que apresentaram esses animaes. O mesmo não se verificou, ainda no grupo de animaes pecilothermicos, com a giboia II que, como a testemunha, resistiu á tuberculina, mas, á necropsia, os esfregaços dos organs revelaram poucos bacillos, embora os ganglios apresentassem um grande numero delles.





Em animaes de sangue quente inoculados com o bacillo de Friedmann o effeito é pequeno, comparativamente com o que se costuma obter em animaes inoculados com o b. de Koch e ensaiados com a tuberculina do typo humano. Por via intra-dermica, por vezes, obtêm-se resultados mais accentuados, nos 2 primeiros mezes em seguida á inoculação de bacillos. Do terceiro para o quarto mês, as provas são todas negativas.

Dos animaes inoculados com o bacillo de Koch, um apresentou reacção fraca e outro morreu em 18 horas, na prova por via sub-cutanea, emquanto que nas provas por via intra-dermica os resultados foram na maioria negativos.

Mais adeante e comparativamente com os resultados das provas cruzadas, estudaremos com maiores elementos a actividade da tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann para animaes inoculados com o bacillo da tuberculose humana.

## II — Relações do bacillo de Friedmann com o da tuberculose humana

Como justificativa para o emprego do bacillo de Friedmann como elemento preventivo e curativo da tuberculose humana, indispensavel seria a verificação experimental de qualquer possivel influencia deste micro-organismo na infecção tuberculosa experimental ou a presença de propriedades pathogenicas, embora attenuadas ou modificadas, mas que em todo caso auctorizassem aquella conclusão.

Estão hoje estudadas as condições em que se processa a immunidade na tuberculose. Certos processos pathogenicos precisam ser estabelecidos para que se manifeste a resistencia organica, que persistirá a despeito da involução daquelles processos, si outras condições tambem não influirem.

Differentes são, portanto, os meios de que se poderá lançar mão afim de se verificar a possibilidade da existencia de qualquer actividade antigenica em relação á tuberculose. Entre esses meios poderemos recorrer á pesquisa da pathogenicidade para animaes de laboratorio, onde a existencia de lesões, embora de natureza regressiva e attenuada, nos auctorize a pensar, não só na presença de processos que indiquem uma possivel relação de causa e effeito, mas ainda na evidencia de alguma acção immunizante contra a infecção. Tambem a verificação da acção cruzada ou não de tuberculinas nos pode dar indicações seguras sobre a existencia daquelles processos que provocam a formação dos anticorpos tuberculosos, apesar de estas provas, como hoje se sabe, não indicarem verdadeiramente uma immunidade. Finalmente, pode-se recorrer á prova de protecção do antigeno em relação á infecção experimental que pretende influenciar. Esta ultima prova, no caso da tuberculose e em virtude da extrema sensibilidade da cobaia não é decisiva, sómente o sendo quando praticada em determinadas condições, mas que poderá mostrar qualquer influencia si se levar em conta o tempo

de sobrevivencia dos animaes inoculados em relação ás testemunhas, nas mesmas condições.

Foram estes os meios de que lançámos mão para verificarmos a possibilidade de qualquer relação do bacillo de Friedmann com a infecção tuberculosa.

As pesquisas de anticorpos *in vitro* (agglutininas, anticorpos, fixadores do complemento) são desprovidas de valor para o nosso caso, pois é sabido que os acido-resistentes para-tuberculosos soffrem a acção desses anticorpos, de identica maneira que os bacillos da tuberculose dos mammiferos (Valtis, Nobain e Fried, Boquet e Negre, Verge, etc.).

a) *Resultado das inoculações e passagens.* — O bacillo de Friedmann não se mostrou pathogenico para os animaes de sangue quente ensaiados, mesmo com o emprego de dóses elevadas (0,500 mgrs.) As lesões passageiras observadas, sempre localizadas, sem prejuizo algum para o estado geral do animal, lembram o quadro symptomatologico dos animaes inoculados com outros acido-resistentes de sangue frio, saprophytas e certos corpos extranhos que determinam apenas uma reacção local, com encystamento. Como estes, o bacillo de Friedmann é tambem a pouco e pouco destruido, eliminado ou absorvido pelo organismo.

Um ou outro nodulo que se possa formar num dos organs desses animaes, não parece, pelo menos por seu aspecto macroscopico, interessar grandemente o parenchyma. Sua côr branco-acinzentada, brilhante, o seu destacamento facil, os seus esfregaços mostrando grande accumulo de bacillos, indicam uma possivel reproducção *in loco* do germe, o que distingue esses nodulos das verdadeiras formações tuberculosas. O facto de se observarem, em cortes histo-pathologicos, certas formações (cellulas gigantes) que lembram estes processos, não indica identidade, pois o mesmo se obtem, não só em estados pathologicos de origem diversa, como nos produzidos por outros acido-resistentes saprophytas e certos corpos extranhos.

A absorpção do bacillo ou a sua eliminação foi observada mais ou menos após 50 dias, observando-se, nesse periodo de tempo, uma grande phagocytose e alterações em lyse do bacillo, o que mostra a facil reacção organica do animal, cujo estado geral não chega a ser abalado. Isto ainda mais se affirma com os resultados das provas de allergia, que, praticadas após 3 meses da inoculação, foram completamente negativas á tuberculina homologa, sabido como é hoje que ellas estão em relação estreita com o tecido tuberculoso.

Os ensaios de augmento de virulencia do bacillo por passagens em animaes não nos deram resultados positivos. As cobaias 221 e 452 foram inoculadas com o pús repleto de bacillos dos abcessos locaes produzidos nas cobaias 323 e 53, respectivamente, e nenhuma alteração apresentaram, nem mesmo perda de peso, durante um longo periodo de observação, o que nos faz pensar que a desintegração e eliminação do bacillo continuaram a ser processadas no organismo dos novos hospedeiros, como vinha sendo feita no organismo dos anteriores.

QUADRO Nº 1

## PROVA SUB-CUTANEA com a Tuberculina do B. de *Friedmann*

| | Animaes | | Bacillos inoculados | | | Tuberculina | | Resultados | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Dose | Via | Data | Dose | Data | | |
| Animaes inoculados com o bacillo de *Friedmann* | Cobaia | 323 | 0,500 | sub-cut. | 23/1/30 | 1cc | 12/3/30 | + | |
| | " | 434 | 0,100 | periton. | " | " | 31/3/30 | + | |
| | " | 263 | 0,100 | testicu. | " | " | " | + | |
| | " | 7 | 0,001 | periton. | " | " | 16/4/30 | ⊖ | |
| | Rã | III | 0,001 | —— | " | " | 12/3/30 | † | † em 20 minutos |
| | " | VIII | 0,050 | —— | 25/2/30 | " | " | † | † em 30 minutos |
| | Giboia | II | 0,100 | —— | 23/1/30 | " | " | ⊖ | |
| Animaes inoculados com o bacillo da Tuberculose humana | Cobaia | 291 | 0,002 | periton. | 7/3/30 | 1cc | 16/4/30 | + | |
| | " | 31 | 0,002 | " | " | " | " | † | † em 18 horas |
| Animaes normaes | Cobaia | 241 | — | —— | —— | 1cc | 16/4/30 | ⊖ | |
| | " | 250 | — | —— | —— | " | 12/3/30 | ⊖ | |
| | Giboia | V | — | —— | —— | " | " | ⊖ | |
| | Rã | X | — | —— | —— | " | " | ⊖ | |

**LEGENDA**

⊖ = Negativo

\+ = Reacção thermica não ultrapassando de 1 grão

† = Morte

L. Godoy

QUADRO Nº 2

## PROVA INTRA-DERMICA
com
a Tuberculina do B. de *Friedmann*

| | Animaes | | Bacillos inoculados | | | Tuberculina a 1/6 | | Resultados |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Dose | Via | Data | Dose | Data | |
| Animaes inoculados com o bacillo de *Friedmann* | Cobaia | 72 | 0,500 | sub-cut. | 23/1/30 | 0,1 | 20/3/30 | ± |
| | " | 440 | " | periton. | " | " | " | ± |
| | " | 483 | 0,100 | sub-cut. | " | " | " | ± |
| | " | 55 | " | " | " | " | " | + + + |
| | " | 359 | " | periton. | " | " | " | ± |
| | " | 167 | " | testicu. | " | " | " | + |
| | " | 22 | 0,001 | sub-cut. | " | " | " | ± |
| | " | 123 | " | testicu. | " | " | " | + + |
| | " | 208 | " | sub-cut. | " | " | " | ± |
| | " | 480 | 0,100 | " | " | " | 19/5/30 | ⊖ |
| | " | 265 | " | testicu. | " | " | " | ⊖ |
| | " | 2 | 0,0001 | sub-cut. | " | " | " | ⊖ |
| | " | 477 | Pisgib I | " | 13/2/30 | " | 20/3/30 | ⊖ |
| | " | 221 | Picobu | " | 28/1/30 | " | " | ⊖ |
| | " | 452 | Picobu | " | " | " | " | ⊖ |
| Animaes inoculados com o bacillo da Tuberculose humana | Cobaia | 405 | 0,002 | sub-cut. | 7/3/30 | 0,1 | 20/3/30 | ± |
| | " | 37 | " | periton. | " | " | " | ⊖ |
| | " | 150 | 0,0025 | " | 26/3/30 | " | 13/5/30 | ⊖ |
| | " | 465 | 0,0005 | sub-cut. | 24/4/30 | " | " | ⊖ |
| | " | 328 | " | " | " | " | " | ⊖ |
| | " | 158 | " | " | " | " | " | ⊖ |
| | " | 405 | 0,002 | " | 7/3/30 | " | " | ⊖ |
| Animaes normaes | Cobaia | 218 | —— | —— | —— | 0,1 | 20/3/30 | ⊖ |
| | " | 453 | —— | —— | —— | " | " | ⊖ |

**LEGENDA**

⊖ = Negativo
± = Duvidoso (ligeiro edema e ligeira vermelhidão nas 24 hs.)
+ = Ligeiramente positivo (ligeiro edema e ligeira vermelhidão nas 48 hs.)
+ + = Positivo (vermelhidão e edema nas 72 hs.)
+ + + = Francamente positivo (edema, vermelhidão, escara nas 96 hs.)

A ausencia de papel pathogenico, pois, do bacillo de Friedmann para os animaes de sangue quente, á luz das nossas verificações, não pode ser posta em duvida. A sua innocuidade é manifesta, não chegando a alterar o estado geral do animal, o que deve estar ligado á sua avirulencia e atoxicidade. As lesões nodulo-suppurativas, sempre semelhantes ás dos corpos extranhos mal reabsorvidos, parecem effeito de uma irritação mecanica devida á enorme massa de bacillos inoculados, ou de uma irritação chimica devida ás substancias proteicas e lipoidicas dos corpos bacillares (Collo).

b) *Comportamento dos animaes infectados com os bacillos da tuberculose humana, com bacillos de Friedmann e com B. C. G., em relação ás tuberculinas do bacillo da tuberculose humana e de Friedmann.* — As nossas verificações foram realizadas em 4 grupos de animaes: 1) animaes inoculados com o bacillo de Friedmann; 2) animaes inoculados com o bacillo da tuberculose humana; 3) animaes inoculados com o B. C. G.; 4) animaes normaes. Cada um desses grupos foi experimentado em relação ás tuberculinas preparadas com o bacillo de Friedmann e com o bacillo da tuberculose humana. Foram feitas experiencias por via sub-cutanea, injectando-se 1cc. das tuberculinas concentradas, e usando-se, por via intra-dermica, as tuberculinas concentradas diluidas a 1/10 e na dose de 0,1cc..

Os quadros 3 e 4 resumem os resultados obtidos com essas provas.

Do estudo desses resultados, que confirmam as verificações de L. Lange, Furth, Meyer, B. Lange, Dietrich, Selter, etc., podem-se tirar as seguintes conclusões:

a) *provas por via sub-cutanea*: 1) os animaes de sangue frio inoculados com o bacillo de Friedmann reagem á tuberculina de Friedmann; 2) os animaes de sangue quente inoculados com o bacillo de Friedmann reagem fracamente á tuberculina de Friedmann, mas não reagem á tuberculina humana; 3) os animaes de sangue quente inoculados com o bacillo da tuberculose humana reagem á tuberculina de Friedmann;

b) *provas por via intra-dermica*: 1) as cobaias inoculadas com o bacillo de Friedmann não reagem á tuberculina humana, mas reagem, em sua maioria fracamente, á tuberculina de Friedmann; 2) as cobaias inoculadas com o bacillo da tuberculose humana e com o B. C. G. reagem fortemente á tuberculina humana, mas não reagem, ou reagem fracamente, á tuberculina de Friedmann.

A tuberculina preparada com o bacillo de Friedmann mostra-se para os animaes inoculados com o bacillo de Koch menos activa do que a tuberculina preparada com o bacillo tuberculoso typo humano e bovino. Essa differença de actividade tem sido verificada por varios experimentadores (L. Lange e outros) e, neste particular, o bacillo de Friedmann se identifica com outros acido-resistentes de sangue frio, segundo as verificações que têm sido realizadas por Weber,

Loewenstein, Ramon e Ravaud, etc., afastando-se, assim, dos bacillos da tuberculose dos mammiferos. Nas nossas verificações, quando foram usadas grandes dóses (prova por via sub-cutanea), os animaes inoculados com o bacillo de Koch reagiram á tuberculina de Friedmann, mas os animaes inoculados com o bacillo de Friedmann não reagiram á tuberculina humana. Nas provas por via intra-dermica foram muito mais accentuadas essas differenças: enquanto que os animaes inoculados com o bacillo da tuberculose humana reagem fortemente á tuberculina do typo Koch e quasi não reagem ou não reagem á tuberculina do bacillo de Friedmann, os animaes inoculados com o bacillo da tuberculose da tartaruga reagem fracamente á tuberculina homologa e não reagem á tuberculina heterologa. Estas provas mostram-nos a differença frisante entre o bacillo de Friedmann e o bacillo de Koch, e, ainda, o parentesco do B. C. G. a este ultimo germe. Si, como quer Friedmann, o bacillo da tuberculose da tartaruga nada mais é que o bacillo de Koch adaptado ao organismo da tartaruga, elle deveria dar um producto tuberculinico que evidenciasse uma proximidade cabal desse germe ao de Koch e é, justamente, o que se não verifica, pois: a) os animaes inoculados com o bacillo de Friedmann não reagem á tuberculina heterologa que, na hypothese, é de effeito muito mais toxico; b) os animaes inoculados com o bacillo de Koch só reagem ás grandes dóses da tuberculina heterologa, tal como se dá com as chamadas para-tuberculinas; c) a ausencia do papel nosogenico para animaes de sangue quente por adaptação ao organismo da tartaruga si revela perda de uma das propriedades do bacillo de Koch não é comtudo um argumento a favor da hypothese da adaptação, pois o B. C. G. que tambem não é nosogenico responde francamente á tuberculina de Koch; d) si, ainda, o bacillo de Friedmann provoca na cobaia, como diz o seu descobridor, lesões passageiras e regressivas semelhantes ás do bacillo de Koch (sendo aquelle bacillo nada mais que o da tuberculose humana adaptado ao organismo da tartaruga) com maior razão deveria dar provas allergicas positivas em face á tuberculina humana, pois esta é de effeito sempre maior, tal como se verifica com o B. C. G., que tambem produz lesões passageiras e regressivas.

Estas provas experimentaes, tão evidentes, afastam de uma maneira frisante o bacillo da tuberculose humana do bacillo da tuberculose da tartaruga, ou, melhor, do bacillo estudado por Friedmann.

c) *Comportamento das cobaias inoculadas com o bacillo de Friedmann em relação á infecção tuberculosa experimental.* — Friedmann, em sua segunda publicação, refere resultados, por elle obtidos, de immunização de cobaias pelo bacillo da tuberculose da tartaruga e submettidas posteriormente á prova de infecção pelo bacillo da tuberculose humana (dóse infectante de 0,001 grs. e 0,003 grs., por via peritoneal). Esses resultados não foram confirmados por outros experimentadores, acreditando alguns, entretanto, em uma maior sobrevivencia das cobaias vaccinadas em relação ás testemunhas, tal como é

## QUADRO Nº 3

# PROVA SUB-CUTANEA
com
as Tuberculinas Humana e do B. de Friedmann

| | Nºs ANIMAES | Inoculações — Bacillos: Dose em gr. | Inoculações — Bacillos: Via | Inoculações — Bacillos: Data | Tuberculinas: Friedmann Dose | Tuberculinas: Humana Dose | Tuberculinas: Data | Resultados com a tuberculina: de B. de Friedmann | Resultados com a tuberculina: Humana | OBSERVAÇÕES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| EXPERIENCIAS EM ANIMAES INOCULADOS COM O BACILLO DE FRIEDMANN | Cobaia 323 | 0,500 | subcut | 23/1/30 | 1cc | — | 12/3/30 | + | — | |
| | . 434 | 0,100 | periton | . | . | — | 31/3/30 | + | — | |
| | . 263 | 0,100 | [illegible] | . | . | — | 31/3/30 | + | — | |
| | . 7 | 0,001 | periton | . | . | — | 14/4/30 | θ | — | |
| | Rã II | 0,001 | — | . | . | — | 2/3/30 | ✝ | — | ✝ em 20 minutos |
| | . III | 0,050 | — | 25/2/30 | . | — | . | ✝ | — | ✝ em 30 minutos |
| | Giboia I | 0,100 | — | 23/1/30 | . | — | . | θ | — | |
| | Cobaia 81 | 0,500 | periton | . | — | 1cc | 26/2/30 | — | θ | |
| | . 480 | 0,100 | subcut | . | — | . | 31/3/30 | — | θ | |
| | . 468 | 0,100 | [illegible] | . | — | . | . | — | θ | |
| | . 182 | 0,001 | subcut | . | — | . | 14/4/30 | — | θ | |
| | Rã I | 0,001 | — | . | — | . | 12/3/30 | — | θ | |
| | Boipeva II | 0,100 | — | . | — | . | . | — | ✝ | ✝ em 48 horas |
| EXPERIENCIAS EM ANIMAES INOCULADOS COM O BACILLO DA TUBERCULOSE HUMANA | Cobaia 291 | 0,002 | periton | 7/3/30 | 1cc | — | 15/4/30 | + | — | |
| | . 37 | 0,002 | periton | . | . | — | 26/3/30 | ✝ | — | ✝ em 18 horas |
| | . 365 | 0,001 | subcut | 28/1/30 | — | 1cc | 7/3/30 | — | ✝ | ✝ em 16 horas |
| | . 405 | 0,002 | subcut | 7/3/30 | — | . | 16/4/30 | — | +++ | |
| EXPERIENCIAS EM ANIMAES NORMAES | Cobaia 250 | — | — | — | 1cc | — | 12/3/30 | θ | — | |
| | . 244 | — | — | — | . | — | 16/4/30 | θ | — | |
| | . 493 | — | — | — | — | 1cc | 7/3/30 | — | θ | |
| | . 334 | — | — | — | — | . | 16/4/30 | — | θ | |
| | Giboia V | — | — | — | 1cc | — | 12/3/30 | θ | — | |
| | Rã X | — | — | — | . | — | . | θ | — | |

**LEGENDA**

θ : negativo
\+ : Reacção thermica não ultrapassando de 1 grão centigrado
++ : Reacção thermica de 1 a 2 gráos
+++ : Reacção thermica ultrapassando de mais de 2 graos
✝ : Morte

QUADRO N: 4

# PROVA INTRADERMICA

com as

## Tuberculinas do B. de Friedmann e Humana

| | Numeros dos animaes | Inoculações de bacillos: Dose | Via | Data | Data da injeção das tuberculinas | Resultados: Tuberculina Friedmann | Tuberculina Humana | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Experiencias em animaes inoculados com o Bacillo de Friedmann | Cobaia [illegible] | [illegible] | Sub cutanea | [illegible] | [illegible] | 0 | 0 | |
| | [illegible] | 0,500 | " | " | | [illegible] | 0 | |
| | 442 | 0,500 | [illegible] | | | [illegible] | 0 | |
| | 452 | [illegible] | Sub cutanea | " | | 0 | 0 | |
| | 413 | [illegible] | " | " | | [illegible] | 0 | |
| | 53 | 0,100 | " | " | | ... | [illegible] | |
| | 459 | 0,100 | [illegible] | " | | [illegible] | 0 | |
| | 167 | 0,100 | [illegible] | " | | [illegible] | 0 | |
| | 22 | [illegible] | Sub cutanea | " | | [illegible] | 0 | |
| | 123 | 0,001 | [illegible] | " | | .. | 0 | |
| | 203 | [illegible] | Sub cutanea | " | | [illegible] | 0 | |
| | 430 | 0,10 | " | " | [illegible] | 0 | 0 | |
| | 263 | 0,100 | [illegible] | " | | 0 | [illegible] | |
| | 2 | 0,000 | Sub cutanea | " | " | 0 | 0 | |
| | 221 | [illegible] | " | " | " | 0 | 0 | |
| | 452 | [illegible] | " | " | | 0 | 0 | |
| | 477 | [illegible] | " | " | | 0 | 0 | |
| | Coelho 436 | 1,100 | [illegible] | " | [illegible] | 0 | 0 | |
| | 296 | 0,001 | " | " | [illegible] | ● | 0 | |
| Experiencias em animaes inoculados com o Bacillo da tuberculose humana | Cobaia 465 | 0,002 | Sub cutanea | 7-3-30 | [illegible] | [illegible] | ... | |
| | 37 | 0,002 | [illegible] | 7-3-30 | [illegible] | 0 | ... | |
| | 150 | 0,0025 | " | [illegible] | [illegible] | 0 | ... | [illegible] |
| | 465 | 0,0025 | Sub cutanea | [illegible] | [illegible] | 0 | ... | [illegible] |
| | 328 | 0,0005 | " | [illegible] | [illegible] | 0 | ... | |
| | 158 | 0,0005 | " | [illegible] | [illegible] | 0 | ... | |
| | 405 | 0,002 | | 7-3-30 | [illegible] | ● | .. | |
| Experiencias em animaes inoculados com o B.C.G. | 11 | [illegible] | Sub cutanea | 2-2-30 | [illegible] | 0 | . | |
| | 103 | 0,001 | " | 2-2-30 | " | 0 | .. | |
| | 423 | 0,01 | " | 2-2-30 | " | [illegible] | ... | |
| | 342 | 0,01 | [illegible] | 2-2-30 | " | [illegible] | .. | |
| | 225 | 0,13 | Sub cutanea | 2-2-30 | " | [illegible] | .. | |
| | 251 | 0,13 | [illegible] | 2-2-30 | " | [illegible] | ... | |
| | 404 | [illegible] | Sub cutanea | 5-3-30 | [illegible] | 0 | .. | |
| | 340 | 0,01 | [illegible] | 2-2-30 | " | 0 | [illegible] | |
| | 211 | 0,13 | Sub cutanea | 2-2-30 | " | 0 | .. | |
| | 251 | 0,13 | [illegible] | 2-2-30 | " | 0 | . | |
| Experiencias em animaes normaes | Cobaio 278 | | | | 20-3-30 | 0 | 0 | |
| | 453 | | | | 20-3-30 | 0 | 0 | |

LEGENDA

obtido com animaes vaccinados com outros acido-resistentes de animaes de sangue frio, mas todos perecendo finalmente de tuberculose generalizada.

Neufeld, tratando desse ponto, assim se refere: "O que está verificado com toda a segurança é que a amostra de Friedmann possúe sempre a mesma virulencia diminuta e sempre a mesma minima capacidade protectora em ensaios de immunização, em condições perfeitamente eguaes ás de outros acido-resistentes isolados de pecilothermicos ou de qualquer material. O cultivo artificial em nada lhe alterou as propriedades".

E' sabida a grande sensibilidade da cobaia para o bacillo da tuberculose humana. As provas de immunização nesses animaes podem, em todo caso, ser baseadas no tempo de sobrevivencia em relação ás cobaias testemunhas. As dóses do bacillo infectante devem, do mesmo modo, ser minimas e a via de inoculação escolhida. Como era o nosso intuito o de revisão das experiencias de Friedmann, procurámos nos approximar o mais possivel das condições em que se collocou. E assim é que foram usados animaes vaccinados por uma unica inoculação, em differentes dóses, e a prova infectante por via peritoneal (0,0025) e por via sub-cutanea (0,0005). Concomitantemente procedemos á prova em animaes vaccinados pelo B. C. G., tambem por uma unica inoculação.

Os quadros 5 e 6 resumem os resultados.

Nos animaes que succumbem poucos dias após a inoculação infectante, notam-se lesões de pequena intensidade, o que não é para extranhar. Os que resistem mais tempo morrem sempre com os organs e ganglios completamente tomados.

No que diz respeito á maior sobrevivencia dos vaccinados em relação aos testemunhas, verificou-se, numa primeira serie de experiencias, que sómente 36,36% resistiram mais que aquelles, ao passo que 63,63% morreram no mesmo espaço de tempo. Em uma segunda serie de experiencias, os animaes recebendo a dóse infectante de 0,0005 grs, por via sub-cutanea, 3 meses após a dóse vaccinante, verificou-se que os animaes vaccinados morreram todos, emquanto que 33,33% apenas dos testemunhas pereceram no mesmo periodo.

O factor individual muito contribue nessas demonstrações e não nos é licito tirar deducções maiores sobre effeitos de immunização quando a maior parte dos animaes vaccinados perece em um periodo egual ás testemunhas. Si uma maior sobrevivencia existe, ella, como diz Neufeld, é minima. Alem disso, esse pequeno effeito protector constatado, é de pouca duração. Já no fim de 3 meses elle desapparece inteiramente.

## DISCUSSÃO E SUMMARIO

Friedmann, ao lançar a sua vaccina preventiva e curativa da tuberculose, expoz varios argumentos que, no seu modo de pensar, justificavam, por si sós, o emprego.

## QUADRO N.º 5

COBAIAS VACCINADAS com os BACILLOS de FRIEDMANN e BCG POSTERIORMENTE INFECTADAS COM BACILLOS DA TUBERCULOSE HUMANA NAS DOSES de 0,0025 VIA PERITONEAL — 0,0025 VIA SUBCUTANEA

**0,0025 VIA PERITONEAL**

| 62 dias após a inoculação do bacillo de Friedmann | | | | | 36 dias após a inoculação do B C G | | | | | Testemunhas | | | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Numeros | Dose vaccinante | Via | Dias de sobrevivencia | Grao de tuberculose | Numeros | Dose vaccinante | Via | Dias de sobrevivencia | Grao de tuberculose | Numeros | Dias de sobrevivencia | Grao de tuberculose | |
| 72 | 0500 | subcutanea | 12 | • | 223 | 0050 | subcutanea | 96 | ••• | 355 | 16 | •• | |
| 483 | 0100 | " | 40 | •• | 11 | 0,00005 | " | 56 | •• | 151 | 5 | ••• | |
| 367 | 0001 | " | 28 | ••• | 14 | 000005 | " | 256 | ••• | 386 | 18 | • | |
| 22 | 0001 | " | 87 | ••• | 26 | 0,00005 | " | 119 | ••• | 116 | 40 | ••• | |
| 136 | 00001 | " | 158 | •••• | 5 | 0001 | " | 18 | • | 214 | 38 | •••• | |
| 201 | 00001 | " | 55 | ••• | 425 | 001 | " | 30 | •• | 496 | 27 | ••• | |
| 167 | 0100 | testicular | 18 | ••• | 264 | 0001 | testicular | 251 | ••• | 354 | 38 | ••• | |
| 123 | 0001 | " | 18 | ••• | | | | | | 150 | 59 | •••• | |
| 440 | 0,500 | " | 18 | ••• | | | | | | | | | |
| 359 | 0,100 | peritoneal | 138 | •••• | | | | | | | | | |
| 284 | 0,001 | " | 194 | •••• | | | | | | | | | |
| | Media | | 72,81 | | | | | 118 | | | 30,37 | | |

**0,0025 VIA SUBCUTANEA**

| 59 dias após a inoculação do bacillo de Friedmann | | | | | | | | | | Testemunhas | | | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 53 | 0100 | subcutanea | 118 | ••• | | | | | | 465 | 27 | ••• | † por tuberculose |
| 182 | 0001 | " | 112 | •••• | | | | | | 528 | 197 | ••• | |
| 468 | 0,100 | testicular | 42 | ••• | | | | | | 158 | 132 | •••• | |
| 476 | 0001 | " | 84 | ••• | | | | | | | | | |
| 494 | 0100 | peritoneal | 150 | •••• | | | | | | | | | |
| 7 | 0001 | | 79 | ••• | | | | | | | | | |
| | Media | | 94,16 | | | | | | | | 118,66 | | |

**LEGENDA**

- • Lesões tuberculosas no ponto de inoculação com ou sem lesões nos ganglios satellites. Tuberculos isolados no baço, figado ou pulmão
- •• Tuberculos em um ou outros dos orgãos geralmente atacados. Tuberculose ganglionar
- ••• Tuberculose generalisada
- •••• Tuberculose generalisada, orgãos largamente infectados, pneumonias caseosas, derrames nas cavidades abdominal e thoracica, ruptura do baço

## QUADRO N: 6

# TEMPO DE SOBREVIVENCIA

DAS COBAIAS VACCINADAS COM O BACILLO DE FRIEDMANN E B.C.G., INFECTADAS POSTERIORMENTE COM O BACILLO DA TUBERCULOSE HUMANA

| | TOTAL | DISTRIBUIÇÃO POR DIAS DE SOBREVIVENCIA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1/10 | 11/20 | 21/30 | 31/40 | 41/50 | 51/60 | 61/70 | 71/80 | 81/90 | 91/100 | 101/110 | 111/120 | 121/130 | 131/140 | 141/150 | 151/160 | 161/170 | 171/180 | 181/190 | 191/200 | 201/210 | 211/220 | 221/230 | 231/240 | 241/250 | 251/260 | |
| TESTEMUNHAS | 8 | 1 | 2 | 1 | 3 | 0 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | INOCULAÇÃO INFECTANTE = 0,0025 VIA PERITONIAL (1ª SERIE) |
| | | 100% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| VACCINADAS FRIEDMANN (após 62 dias) | 11 | 0 | 4 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | | | | | | | |
| | | 63,63% | | | | | | 36,36% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| VACCINADAS BCG (após 56 dias) | 7 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | |
| | | 42,85% | | | | | | 28,56% | | | | | | | | | | | | | | 28,56% | | | | | | |
| TESTEMUNHAS | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | | | | | | | INOCULAÇÃO INFECTANTE = 0,0005 VIA SUB-CUTANEA (2ª SERIE) |
| | | 33,33% | | | | | | | | | | | | | 66,66% | | | | | | | | | | | | | |
| VACCINADAS FRIEDMANN (após 84 dias) | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 1 | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 100% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Partindo das idéas de Koch, que relacionou a immunidade tuberculosa ao tecido tuberculoso, Friedmann acreditou que um bacillo por elle isolado de uma tartaruga tuberculosa (?) encerrava todas as condições de uma vaccina ideal, por isso que as suas propriedades eram as mais proximas possiveis das do bacillo da tuberculose humana, produzindo, entretanto, lesões ligeiras na cobaia, de caracter regressivo e sendo completamente atoxicos para esses animaes. Primitivamente do typo humano (?), o bacillo perdera as suas propriedades pathogenica, nosogenica e toxica por adaptação ao organismo da tartaruga.

As idéas de Friedmann não puderam ser confirmadas e uma grande pleiade de scientistas de renome se tem insurgido na Alemanha contra o remedio, no qual não encontra bases scientificas que o recommendem.

Procurámos estudar experimentalmente alguns aspectos desta questão, hoje tão em ordem do dia entre nós.

Preliminarmente, assignalámos os trabalhos de Friedmann e seus principaes argumentos, como os argumentos que lhe têm sido oppostos por grande numero de observadores, citando, a este respeito, a bibliographia dos mais importantes trabalhos já realizados. Na parte verdadeiramente experimental do nosso trabalho, estudámos o bacillo de Friedmann que conseguimos isolar de uma empola de sua propria vaccina.

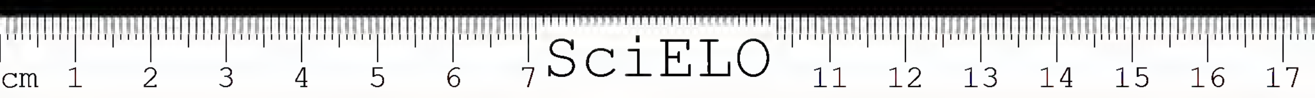
Sem qualquer prevenção a favor ou contra o emprego desse meio prophylactico e curativo da tuberculose na pratica corrente, nos cingimos a assignalar os nossos resultados experimentaes, procurando tirar delles os commentarios que fossem possiveis.

A nossa experimentação baseou-se, primeiramente, no estudo do bacillo isolado, seus caracteres morphologicos e biologicos, e, em segundo logar, na verificação das suas possiveis relações com o bacillo da tuberculose humana e com a infecção tuberculosa, baseando-nos nos resultados do comportamento dos animaes com elle inoculados em relação ás tuberculinas homologa e a preparada com o bacillo da tuberculose humana, assim como sobre o comportamento desses animaes em relação á infecção tuberculosa experimental.

Quanto á primeira parte do problema, ficaram bem evidenciadas as differenças entre o bacillo de Friedmann e o *Mycobacterium tuberculosis*. Estas differenças dizem respeito aos caracteres culturaes, biologicos e pathogenicos destes micro-organismos, embora apresentem certos pontos de contacto proprios a todos os do grupo dos acido- alcool-resistentes.

A verificação da pathogenicidade para os animaes de sangue quente e frio, por si só, é sufficiente para separal-os biologicamente. A hypothese de ter provindo do bacillo da tuberculose humana e que se tenha modificado em sua biologia e propriedades pela passagem na tartaruga, não se poderá apoiar pelos nossos resultados experimentaes. As lesões determinadas nos animaes de sangue quente, não se approximam das devidas ao germe tuberculoso, mesmo acceitando-se a hypothese invocada. Não se trata de lesões de aspecto seme-





lhante ao que se verifica na tuberculose (capazes de determinar immunidade), mesmo de caracter attenuado e regressivo; porém o germe de Friedmann parece comportar-se como um corpo extranho, que se localiza geralmente, provocando reacções de defesa e que é, a pouco e pouco, destruido e eliminado pelo organismo.

Para certos animaes de sangue frio (rãs, lagartos) a sua pathogenicidade é evidente, havendo invasão do organismo e localização em certos organs; para outros, este effeito é pouco accentuado, como acontece para a propria tartaruga do mar, de onde fôra primitivamente isolado, segundo Friedmann.

Em relação á segunda parte do problema, e sobre o comportamento dos animaes inoculados com o bacillo de Friedmann em relação á tuberculina homologa e á tuberculina preparada com o bacillo de Koch, não se evidenciaram, a este respeito, resultados que auctorizassem a confirmação da hypothese de Friedmann. O bacillo estudado se comportou como outros acido-resistentes, sendo que os nossos resultados se approximaram dos já obtidos por Weber, Loewenstein, Ramon e Revaud, L. Lange, Dietrich, Selter, etc.

Sobre, finalmente, o comportamento dos animaes inoculados com o bacillo de Friedmann em relação á tuberculose experimental, ou, em outras palavras, sobre o seu valor antigenico para a tuberculose, os nossos resultados foram tambem negativos.

No que diz respeito á tuberculose, esta verificação do poder protector deve ser analysada sob reservas, com qualquer que seja o antigeno empregado, em virtude da extrema sensibilidade do animal de experimentação (cobaia) á tuberculose e por ser difficil nos collocarmos muito proximos das condições naturaes da infecção.

Nas nossas experiencias não nos procurámos collocar nestas ultimas condições, visto como apenas nos cingimos a repetir as experiencias do proprio Friedmann. Este havia verificado que uma só dose do seu bacillo era capaz de proteger as cobaias reinoculadas com dóses de 0,001 a 0,003 grs. de bacillos tuberculosos virulentos que determinavam a morte das testemunhas em 18 a 30 dias.

Lançámos mão de differentes dóses, algumas elevadas, e diversas vias para a introducção do bacillo de Friedmann. A titulo de comparação, foram tomadas cobaias normaes, testemunhas e cobaias inoculadas, em doses geralmente menores, com o B. C. G.. As doses infectantes do bacillo tuberculoso que empregámos foram de 0,0025 e 0,0005 grs., esta ultima menor que a usada por aquelle auctor.

Mesmo tomando-se como base para o indice de immunidade ou de protecção o tempo de sobrevivencia em relação ás testemunhas, os nossos resultados não foram favoraveis para a serie de animaes inoculados com o bacillo de Friedmann.

Numa primeira serie de experiencias, com a dose infectante de 0,0025 grs. de bacillos tuberculosos o tempo de sobrevivencia das cobaias testemunhas foi em media de 30 dias, das inoculadas com o B. C. G. de 118 dias e de 71 dias das inoculadas com o bacillo de Friedmann; na segunda serie, porém, com a dose infectante de 0,0005, a sobrevivencia das testemunhas foi em media de 118 dias, ao passo que as inoculadas com o bacillo de Friedmann foi de 94 dias apenas.

Estudando, em relação ás testemunhas, os resultados destas duas series de experiencias, verifica-se na 1.ª serie (com 0,0025 grs. de bacillos infectantes): enquanto haviam morrido 100% das testemunhas num periodo de 60 dias, succumbiram 63,63% dos animaes inoculados com o bacillo de Friedmann e 42,85% dos inoculados com o B. C. G.; os restantes 36,36% inoculados com o Friedmann succumbiram e mais 28,56% dos animaes inoculados com o B. C. G. num periodo de 200 dias, permanecendo ainda vivos 28,56% dos B. C. G., que succumbiram, finalmente, num periodo de 260 dias. Na 2.ª serie (com 0.0005 de bacillos infectantes), enquanto que 33,33% das testemunhas normaes haviam succumbido num periodo de 130 dias, morreram 100% das inoculadas com o bacillo de Friedmann; as restantes 66,66% das testemunhas succumbiram num periodo de 160 dias. Os quadros publicados no texto dão melhor idéa e resumem os resultados que obtivemos.

Embora, como já deixámos assignalado, esta prova, nas condições em que foi feita, não auctorize conclusão sobre o valor immunizante do antigeno empregado, os nossos resultados confirmam os obtidos por Libbertz e Ruppel, Uhlenhuth, Schroeder, Kuchner, Aronson, Neufeld, etc., que verificaram que os animaes vaccinados apresentam apenas uma diminuta e passageira resistencia ao bacillo de Koch, tal como se observa nos animaes vaccinados com outros acido-resistentes de sangue frio.

## CONCLUSÃO

Os nossos estudos experimentaes sobre um micro-organismo acido-resistente isolado da vaccina de Friedmann, encarado sob o ponto de vista de seus caracteres culturaes e biologicos, assim como sob o de suas reacções allergicas e propriedades immunizantes, não nos auctorizam a acreditar na possibilidade de exercer elle qualquer influencia propria, especialmente immunizante, sobre a *infecção tuberculosa experimental.*

## ABSTRACT

In the course of an experimental investigation made of both the cultural and biological characteristics, and the immunizing properties and allergenic reactions of and acid-fast bacteria as isolated from Friedmann's bacterin (anti-





tuberculous vaccin) it has been found that there is no ground on which to justify any possibility of such a germ bearing any especific power on the experimental tubercle infection on which it also proved to be devoid of any immunizing property.

---

## BIBLIOGRAPHIA


1. *Auché & Hobbs* — C. R. Soc. Biologie. sessão de 8/1/1898.
2. " " — C. R. Soc. Biologie. sessão de 30/10/1897.
3. *Aujesky. A.* — Centralbl. f. Bakt. Originale XLII:397.1906.
4. *Bataillon, Dubard & Terre* — C. R. Acad. Sciences CXXIV:1933.1897.
5. *Bertarelli. E. & Bocchia, I.* — Boll. Soc. M. Parma. Dez. 1910.
6. " " — Bull. Inst. Pasteur IX:208:1911.
7. *Betegh, L. V.* — Centralbl. f. Bakt. Originale LIV:211.1910.
8. *Brauer, L.* — Deut. Med. Woch. XL:833.1914.
9. " — Deut. Med. Woch. XL:1019.1914.
10. *Baumann, E. J.* — Deut. Med. Moch. XL:1216.1914.
11. *Barnes, L. H.* — The Prov. Med. 1913 (cit. L. Lange)
12. *Bischoff & Schimtz* — Med. Klin. Woch. XXII:1135.1914.
13. *Beck, M.* — Tub. Arb. a. Kaiserl. Ges. Amt. XXIV:145.1907 (cit. L. Lange)
14. *Buschke* — Berl. Klin. Woch. LVIII:3.1921.
15. *Boquet, A. & Negre, L.* — C. R. Soc. Biologie LXXXVIII:1013.1923.
16. *Collo, G. P.* — Boll. Inst. Sierot. Mil. III:95.1924.
17. *Dostal, H. & Ender, Fr.* — Wiener Klin. Woch. XLIV:1121.1913.
18. *Dietrich, W.* — Deut. Med. Woch. XLVII:406.1921.
19. *Ehrlich* (relatorio de 4/VIII/1913) cit. L. Lange.
20. *Friedmann, F. F.* — Deut. Med. Woch. XXIX:464.1903.
21. " " — Deut. Med. Woch. XXIX:953.1903.
22. " " — Deut. Med. Woch. XXX:166.1904.
23. " " — Deut. Med. Woch. XXX:1673.1904.
24. " " — Berl. Klin. Woch. XLIX:2214.1912
25. *Fromme* — Med. Klin. Woch. XXII:1136.1914.
26. *Furth* — Zeitschr. f. Hyg. XCI:197.1920.
27. *Gottstein, E.* — Hyg. Rundschau :281.1905 (cit. L. Lange)
28. *Herzog* — Centralbl. f. Bakt. Originale XXXI:78.1912.
29. *Iansco & ElferBraners* — Beitr. XVIII.1911 (cit. L. Lange)
30. *Jakobitz, K.* — Munch. Med. Woch. LVII:1172.1910.
31. *Klemperer, F.* — Zeit. f. Klin. XLVIII:250.1904.
32. *Kruse, W.* — Deut. Med. Woch. XLIV:147.1918.
33. *Kaufmann, K.* — Beitr. z. Klin. Tub. XXXII:249.1914.
34. " — Deut. Med. Woch. XL:1430.1914.
35. *Kirch, E.* — Arch. f. Hyg. LXXVIII:327.1913.
36. *Kolle, W. & Schlossberger, H.* — Deut. Med. Woch. XLVI:1381.1920.
37. *Lubarsh* — Centralbl. f. Bakt. Originale XXVII:710.1900.
38. *Lange, L.* — Zeit. f. Immunitatsf. XXXII:229.1924.
39. *Libbertz & Ruppel* — Deut. Med. Woch. XXXI:139.1905.

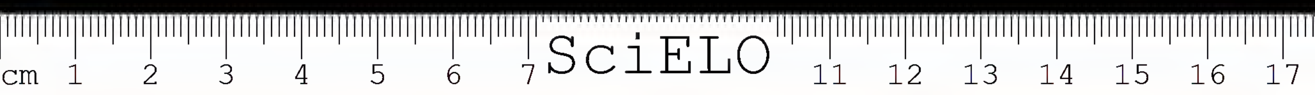





40. " " — Deut. Med. Woch. XXXI:182.1905.
41. *Lurie, M.* — Bull. Inst. Pasteur IX:682.1911.
42. *Moriya, G.* — Centralbl. f. Bakt. Originale XLV:294.1908.
43. *Moeller, A.* — Therap. d. Gegenwart LIV:125.1913 (cit. L. Lange)
44. " — Zeitschr. f. Tub. u. Heilst. — Wes. V:206.1904.
45. *Meinicke, E.* — Deut. Med. Woch XL:1372.1914.
46. *Meyer, S.* — Zeitschr. f. Hyg. XCVII:443.1923.
47. *Nicolas & Lesieur* — C. R. Soc. Biologie, sessão de 7/X/1899.
48. *Neumann, W.* — Wiener Klin. Woch. XLV:731.1914.
49. *Neufeld, F.* — Deut. Med. Woch. LVI:320.1930.
50. *Orth & Rabinowitsch* — Virchows Arch. Beihefts CXC:1.1907.
51. *Piorkowski, M.* — Deut. Med. Woch. XL:840.1914.
52. *Ramon & Ravaut* — C. R. Soc. Biologie, sessão de 28/5/1898.
53. *Rabinowitsch, L.* — Deut. Med. Woch. XXXII:866.1906.
54. " — Deut. Med. Woch. XL:686.1914.
55. " — Virchows Archiv Beihefts CXC:196.1906.
56. *Sion, V.* — Centralb. f. Bakt. Originale XXVII:710.1900.
57. *Sorgo, J. & Suess, E.* — Centralbl. f. Bakt. Originale XLIII:422.1907.
58. " " — Centralbl. f. Bakt. Originale XLIII:529.1907.
59. *Sorgo, J.* — Wiener Klin. Woch. XXXVIII:1126.1907.
60. *Schroder, G.* — Deut. Med. Woch. XLV:197.1919.
61. *Selter, H.* — Zeitschr. f. Hyg. XCV:197.1922.
62. *Schutz, W. Neufeld, F. & Miessner, H.* — Zeitschr. f. Hyg. LI:300.1905.
63. *Tsukiyama, K.* — Inaug. Diss. Gieszen. 1908 (cit. L. Lange).
64. *Ulenhuth, P. & Lange, L.* — Deut. Med. Woch. XLVI:1407.1920.
65. *Urbain, A. & Fried, B.* — Ann. Inst. Pasteur XXXIV:294.1920.
66. *Verge, J.* — C. R. Soc. Biologie LXXXVIII:185.1923.
67. *Valtis, J.* — C. R. Soc. Biologie LXXXVII:1030.1922.
68. *Westenhofer* — Berl. Klin. Woch. L:1245.1913.
69. *Windreth* — Med. Klin. Woch. XXII:926.1914.
70. *Weber, A.* — Arb. a. Kaiserl. Gesundheitsamt XIX:251.1902.
71. " — Centralb. f. Bakt. Originale LXIV:240.1912.
72. *Weber & Taute* — Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt XXII:110.1905.
73. *Weber & Titze* — Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt XXIV:1.1907.
74. *Weber & Dieterlen* — Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt XXV.217.1908.

(Trabalho da Secção de Virus e de Immunologia do Instituto Butantan, publicado como nota previa in Brasil Medico XLV (41): 949-953. 1931).





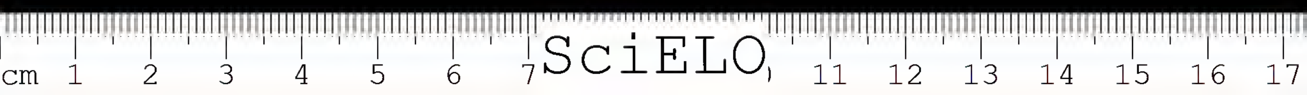

cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17




Fig. 1

a) aspecto em meio ovo de Dorset á temperatura de 26°
b) aspecto em gelose glycerinada á temperatura de 26°
c) aspecto em batata glycerinada, 1.ª sub-cultura, á temperatura de 26°



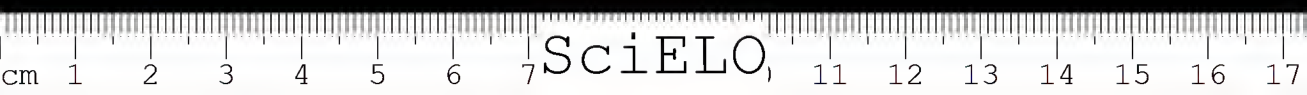
Fig. 2

Aspecto em batata glycerinada após a 2.ª sub-cultura, á temperatura de 37°



Fig. 3

Aspecto em caldo glycerinado, á temperatura de 26°


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17



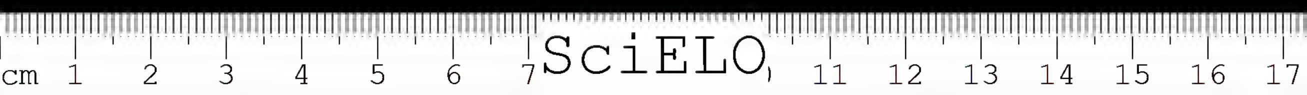
Serpente (**Constrictor constrictor**) com lesões produzidas por inoculação do bacillo de Friedmann.



Rã (**Hyla faber**) com identicas lesões



Tartaruga (**Chelone mydas**) das usadas nas inoculações.


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17

# SOBRE A DURAÇÃO DA ACTIVIDADE DO ANTIGENO PARA A REACÇÃO DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO NA FEBRE AMARELLA

POR

J. LEMOS MONTEIRO E J. TRAVASSOS

---

614.541:616.076

# SOBRE A DURAÇÃO DA ACTIVIDADE DO ANTIGENO PARA A REACÇÃO DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO NA FEBRE AMARELLA

POR

J. LEMOS MONTEIRO E J. TRAVASSOS

---

Os resultados experimentaes já assignalados por diversos auctores sobre a reacção de fixação do complemento na febre amarella são sufficientes para mostrar o valor desta reacção para o diagnostico da infecção depois de certo periodo e na convalescença, assim como para a determinação retrospectiva de antigos doentes, principalmente os de formas frustras e inapparentes ou de individuos naturalmente immunizados, residentes em zonas endemicas. A importancia da reacção praticada por occasião de surtos epidemicos mais se evidencia quando se tem em vista que a immunidade consequente á infecção amarillica é de longa duração, persistindo, segundo experiencias de Hindle (1), pelo menos 24 annos.

Os resultados dos estudos experimentaes a respeito e a especificidade da reacção já foram descriptos e estudados em diversos trabalhos, principalmente por Frobisher (2), Davis (3) e por nós (4).

Tambem já assignalamos que soros contendo anticorpos fixadores do complemento são capazes de proteger o *Macacus rhesus* em relação á infecção experimental, podendo a reacção substituir o processo da prova de protecção, muito dispendioso e que nem sempre pode ser realizado, para o diagnostico da infecção.

Pudemos, ultimamente, mais uma vez, confirmar esse facto com soros, que nos foram enviados para diagnostico pelo dr. Salvador Mazza, provenientes de casos suspeitos manifestados em certas regiões ao norte da Argentina.

O antigeno mais commummente usado para a reacção é o preparado com figado de *Macacus rhesus* infectado, tratado, sob varias technicas, pelo methodo de extracção descripto por Hindle (5). Melhores resultados obtivemos com a technica apresentada em nosso trabalho citado. Mais recentemente, Hudson (6) verificou que a mistura de soros de macacos infectados, colhidos em reacção

febril, depois de congelada, submettida á seccagem por uma technica especial e conservada em estado secco, pode ser utilizada com antigeno, mantendo durante mais de um anno as suas propriedades. Este auctor verificou, por experiencias comparativas, ser elle um agente fixador mais efficaz que os antigenos preparados com tecido hepatico de macacos infectados.

Tendo-nos aquelle collega argentino, tambem, solicitado antigeno amarillico para a pratica da reacção, resolvémos, antes de attendel-o, tornar a verificar os nossos antigenos, conservados a 5°C., em face de soros anteriormente já experimentados e que conservamos empolados nas mesmas condições de temperatura.

Os resultados das reacções praticadas com 2 antigenos datando de quasi 2 annos (cerca de 1 anno e 9 mezes) são resumidos na presente nota, assim como algumas considerações que julgamos necessarias e de interesse para sua execução e interpretação dos resultados.

Os antigenos, 105A e 109A, preparados segundo a technica já descripta (2.ª nota: Mem. Inst. Butantan V. 1930), apresentavam um precipitado, sendo por isto, novamente filtrados em papel filtro fino. A dose usada foi de 0,2 c.c.. Os soros a examinar, depois de aquecidos durante 1/2 dora a 55°, foram usados nas doses de 0,2 e 0,1 c. c. para cada tubo, sendo feito um tubo testemunha do soro para verificação do poder impediente ou anticomplementar. A dose do complemento (soros de 3 cobaias normaes, pelo menos, diluido a 1/20) a ser ajuntada é da maxima importancia, devendo ser rigorosamente determinada em face do antigeno. Esta dose é a que determina a hemolyse total, accrescida de pequeno excesso somente (1,1 ou 0,05 c. c.). Para os casos de soros anticomplementares somente é que lançamos mão de doses crescentes de unidades complementares, segundo a technica anteriormente descripta (1.ª Nota: Mem. Inst. Butantan V. 1930). Na primeira phase da reacção, os tubos, depois de completado o volume para 1,5 c.c., são mantidos em banho-maria a 37° durante 1 1/2-2 horas; na segunda phase, ajunta-se 0,5 c.c. de hematias lavadas e sensibilizadas com 4 unidades hemolyticas, sendo a incubação continuada por 1/2 hora.

A leitura do resultado é feita no fim deste tempo ou antes, logo que se verifique hemolyse total no tubo testemunha. O resultado definitivo é dado pela nova leitura feita 24 horas depois, tendo os tubos permanecido na geladeira a 5°C.

O quadro annexo mostra os resultados obtidos com cerca de 20 soros, estando registados os anteriormente obtidos e os das reacções agora praticadas, datando os antigenos de quasi 2 annos. Foram examinados soros de convalescente e de pessoas que haviam tido a infecção (não confirmada em um), sangradas posteriormente, soros de *Mac. rhesus* immunizados e de algumas pessoas residentes na Bahia, de resultado anterior positivo e ainda conservados em stock. Como testemunhas foram tomados soros de animaes (cobaia, coelho e *rhesus*) infectados com o typho exanthematico de S. Paulo.

| SOROS EXAMINADOS | ANTIGENO N.° 103A, preparado em 25/VII/930 | | | | | | | | ANTIGENO N.° 109A, preparado em 4/VIII/930 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Reacções em 30/VII/30 e 26/VIII/30 | | | | Reacções em 27/IV/32 | | | | Reacções em 27/IV/32 | | | |
| | Leitura immediata | | Leitura após 24 h. | | Leitura immediata | | Leitura após 24 h. | | Leitura immediata | | Leitura após 24 h. | |
| | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 |
| P. F. N. convalescente febre amarella | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | — | — | — | — |
| Rio, caso extr. (27/I/30) não confirmado | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Rio, caso 91 (14/II/30) | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 2 |
| Rio, caso 84 (19/II/30) | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | — | 1 | — | 4 | 4 | 3 | 2 |
| Rio, caso 62 (19/II/30) | ± | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | ± | 2 | 1 | ± | 0 |
| Rio, caso 102 (4/II/30) | 4 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 1 | 4 | 4 | 3 | 2 |
| Rio, caso 32 (29/I/30) | 4 | 4 | 4 | 4 | — | — | — | — | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Bahia, caso 46 | 3 | 2 | 2 | 1 | 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 2 |
| Bahia, caso 51 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Bahia, caso 71 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Bahia, caso 92 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Bahia, caso 67 * | 3 | 2 | 2 | 1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 |
| Rhesus 104 (11/VIII/30) | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 2 | — | — | — | — |
| Rhesus 77 (13/XI/29) | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | — | — | — | — |
| Rhesus 121 (29/VIII/31) | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Rhesus 112 (28/VIII/30) | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Rhesus 57 (17/X/29) | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 |
| Rhesus 32 (12/XI/29) | 4 | 3 | 3 | 2 | 2 | — | 1 | — | 4 | 3 | 3 | 2 |
| Rhesus 114 (18/VIII/30) | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Rhesus 62 (6/VIII/29) | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Rhesus 122 (21/VIII/30) | 3 | 2 | 2 | 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 4 | 4 | 2 | 3 |
| Cobaia 654 — Typho exanth. | — | — | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Coelho 23 — Typho exanth. | — | — | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Rhesus 9 — Typho exanth. | — | — | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

4 = ++++
3 = +++
2 = ++
1 = +

± = ±
0 = negativo
— = não foi feita a reacção
* = com estes soros as reacções primitivas foram praticadas com o antigeno n.° 102A

Pelo estudo comparativo dos resultados assignalados no quadro, verifica-se que os antigenos conservaram estaveis suas propriedades fixadoras do complemento em face dos soros especificos, mostrando-se até, em alguns casos, mais efficazes depois de decorrido aquelle prazo de conservação a 5°C.

Por estes resultados, conclue-se que o antigeno amarillico preparado com figado de *rhesus* infectado, segundo technica anteriormente descripta, conserva estaveis e, talvez mesmo fortalecidas, suas propriedades fixadoras do complemento por um tempo relativamente longo (verificação após quasi 2 annos), em face de soros especificos.

## ABSTRACT

In a previous paper it was shown that the verification of both experimental yellow fever and immunity of persons having had the natural infection and living in endemic zones can be based on the complement fixation reaction. This reaction may take the place of the proof of protection of *rhesus* monkeys by means of immune serum, a process that is much more costly and tedious.

The result of those previous experiments has recently been confirmed in regard to a few samples of sera secured in Bolivia and received from Argentina for diagnosis, the antigen used having been prepared from the liver of infected *rhesus* nearly two years ago (21 months).

Having thus retested several samples of sera previously examined, the Authors found that the complement fixation power of their yellow fever antigen in the presence of immune sera has not changed for nearly two years and seems to have become somewhat strengthened.

---

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Hindle, E.* — Lancet I:451.1930.
2. *Frobisher Jr., M.* — Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. XXVI:846.1929; J. Prev. Med. V(1):65.1931; Amer. J. of Hygiene XIII (2):585.1931 *et* Amer. J. of Hygiene XIV(1):147.1931.
3. *Davis, G. E.* — Amer. J. of Hygiene XIII(1):79.1931.
4. *Monteiro, J. Lemos & Travassos, J.* — C. R. Soc. Biologie CIV(21):697.1930; Brasil Medico XLV(12):288.1931; 6.ª Reunion Soc. Arg. Path. Reg. Norte, Salta, Oct. 1930 *et* Mem. Inst. Butantan V:173.1930.
5. *Hindle, E.* — Transact. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. XXII:405.1929.
6. *Hudson, N. P.* — Amer. J. of Hygiene XV(2):557.1932.

(Trabalho das Secções de Virus e Immunologia do Instituto Butantan, terminado em Julho de 1932).

# OBSERVAÇÕES EM TORNO DO PHENOMENO DE DURAN-REYNALS

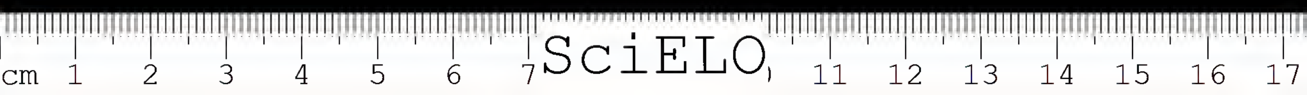
POR

R. GODINHO E J. TRAVASSOS

---

*(com 4 gravuras no texto)*

---


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17

614.321

# OBSERVAÇÕES EM TORNO DO PHENOMENO DE DURAN-REYNALS

POR

R. GODINHO E J. TRAVASSOS

---

Numerosas investigações sobre o effeito do extracto de certos organs em relação ao poder infectante de determinados virus chamados filtraveis e de algumas bacterias vêm sendo realizadas por varios pesquisadores a partir de 1928, depois que Duran-Reynals (1), dos laboratorios do Instituto Rockefeller, publicou as primeiras observações sobre o assumpto. De seus estudos originaes sobre o augmento do poder de infecção da neuro-vaccina sob a acção do extracto de tecido testicular concluiu que as lesões cutaneas produzidas pela orchi-vaccina de Noguchi são influenciadas apenas ligeiramente por aquella substancia, o mesmo não acontecendo quando ella actúa conjunctamente com o virus commum do cow-pox, determinando lesões consideravelmente augmentadas. Verificou tambem, que, embora em grão muito ligeiro, o extracto de rim possue propriedades identicas ás de tecido testicular.

O resultado da parte essencial dessas experiencias foi, em seguida, applicado pelo A., com a collaboração de Sunner-Pi (2), sobre um germe de manifesta affinidade cutanea, com o fim de evidenciar toda a differença que, desse ponto de vista, poderia existir entre uma bacteria e um virus filtravel. Foram injectados em cobaias 2 a 3 c.c. de uma cultura de estaphylococco em caldo, datando de 24 horas e addicionada de 1 a 3 c. c. do liquido sobrenadante do extracto fresco de testiculos de cobaia nova; a uma serie de testemunhas foi dada a mesma dose da cultura e completado o volume com solução salina. De modo nitido ficou demonstrado que o poder infectante do estaphylococco é praticamente sempre augmentado pela acção de certas substancias contidas nos extractos salinos de testiculos normaes. Assim, do ponto de vista da exaltação da infecção pelo extracto testicular, não encontraram differença alguma apparente entre o virus vaccinico e o estaphylococco, ambos dotados de manifesta affinidade cutanea.

Posteriores estudos de Duran-Reynals (3), indicaram que o effeito do extracto parece exercer-se antes sobre o terreno do que sobre o virus, porquanto o virus injectado por via venosa se localizaria mais facilmente na area da pelle

previamente injectada com o extracto testicular. Estudando o effeito dos extractos de rim, de cerebro e de figado, esse auctor concluiu que, á semelhança do de testiculo, elles provocam tambem augmento das lesões, porém em gráo menor. Notou que os coelhos apresentavam symptomas geraes, com cerca de 25 % de mortalidade, quando soffriam a exaltação das lesões vaccinicas pelo extracto testicular.

Sobre o processo das lesões visceraes consequentes á introducção da vaccina neuro-testicular os estudos de Ledingham e sua assistente M. Barratt (4), do Instituto Lister, confirmaram as observações de Douglas, Smith e Price, quanto á hypothese da responsabilidade directa do virus por taes lesões e suggeriram a probabilidade de alguma infecção bacteriana intervir no decurso da cachexia.

Pijoan (5), do Laboratorio de Pomona, em California, dando maior desenvolvimento aos estudos de Duran-Reynals, verificou a acção do extracto de differentes organs sobre vinte amostras de bacterias diversas, encontrando em alto gráo uma exaltação da infecção excepto em relação ao extracto de baço que, ás vezes, produz lesões ainda menores do que nos casos ordinarios.

Com o virus herpetico, da estomatite dos cavallos, da molestia de Borna e da vaccina fez Hoffmann (6), nos laboratorios do Instituto Rockefeller, interessantes verificações quanto á variavel exaltação das lesões por influencia dos extractos, conseguindo tornar virulentas amostras attenuadas de virus do herpes ou tornando infectante para certas especies ou tecidos resistentes o virus da estomatite vesicular. Dahi concluiu este A. que o phenomeno de Reynals pode servir de importante agente para o estudo dos virus filtraveis.

## CONTRIBUIÇÃO PESSOAL

Procuramos, da nossa parte, fazer um estudo previo de certas condições do phenomeno de Duran-Reynals, especialmente no que se refere á influencia do aquecimento do extracto, da filtração e da quantidade do mesmo para melhor orientar a sua applicação, relativamente tanto ao virus commum da polpa vaccinica do Instituto, como ao virus puro filtrado, ambos obtidos segundo a technica descripta por um de nós e Lemos Monteiro (7). O extracto foi preparado com testiculos normaes de vitello, não immune á vaccina, retirados sob rigorosa asepsia e, em seguida triturados no apparelho Felix e emulsionados em Ringer na proporção de 1.000 c. c. da solução para 200,0 grs. de tecido finamente triturado; filtrada a emulsão, foi verificada a sua esterilidade pelos meios ordinarios de laboratorio.

A primeira verificação teve em mira confirmar a realidade do phenomeno de Reynals e, para isto, dois coelhos foram inoculados por via intradermica, do lado direito com 0,2 c. c. de polpa diluida a 1/50 e do lado esquerdo com 0,2 c. c.

de uma mistura, em partes iguaes de polpa e extracto testicular não filtrado, sendo a diluição final da polpa ajustada igualmente a 1/50.

Falam em favor da realidade do augmento das lesões os resultados do quadro abaixo e a photographia n.° 1.

I

VIRUS VACCINICO E EXTRACTO TESTICULAR

(Sobre o factor de Duran-Reynals)

| DATA DA INOCULAÇÃO — 9 — IV — 1931 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Polpa (1/50) | | | Polpa e extracto (1/50) | | |
| Datas | 11 - IV - 31 | 13 - IV - 31 | 15 - IV - 31 | 11 - IV - 31 | 13 - IV - 31 | 15 - IV - 31 |
| Coelho n.° 113 | 1,0×1,0<br>I | 0,5×0,5<br>I | 0,5×0,5<br>I | 3,5×2,0<br>I | 2,0×2,0<br>I | 2,0×2,0<br>I |
| Coelho n.° 127 | 2,0×1,5<br>I | 1,5×1,5<br>I | 1,0×1,0<br>I | 3,5×2,5<br>I | 2,0×2,0<br>I | 2,5×2,0<br>I |

Os algarismos arabicos indicam a medida tomada no maior diametro das pustulas; os romanos, o numero de pustulas desenvolvidas.

Para demonstrar a influencia do calor sobre a actividade do extracto testicular tomamos dois coelhos, que receberam, por via intradermica no lado direito, 0,2 c. c. de polpa vaccinica mais extracto testicular não aquecido e, do lado esquerdo, 0,2 c.c. da mesma polpa mais extracto aquecido a 100° em banho maria, durante 15 minutos. A diluição final da polpa foi de 1/50.

II

VIRUS VACCINICO E EXTRACTO TESTICULAR

(Influencia do calor sobre a actividade do extracto)

| DATA DA INOCULAÇÃO — 11 — IV — 1931 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Polpa mais extracto não aquecido | | | Polpa mais extracto aquecido | | |
| Datas | 11 - IV - 31 | 13 - IV - 31 | 17 - IV - 31 | 11 - IV - 31 | 13 - IV - 31 | 17 - IV - 31 |
| Coelho n.° 122 | 3,0×2,0<br>I | G | G | 1,5×1,5<br>I | 1,5×1,5<br>I | 1,0×1,0<br>I |
| Coelho n.° 128 | 2,0×1,5<br>I | 1,4×1,4<br>I | 1,4×1,4<br>I | 0,5×0,5<br>I | 0,5×0,5<br>I | 0,5×0,5<br>I |

G — indica generalização da pustula vaccinica; os demais algarismos têm a mesma significação que no quadro n.° I.

## III

## INFLUENCIA DA FILTRAÇÃO DO EXTRACTO ATRAVÉS DE VELAS DIATOMACEAS

Os coelhos 126 e 144 recebem do lado direito 0,2 c.c. de polpa mais extracto filtrado em partes iguaes e do lado direito 0,2 c. c. de polpa diluida a 1/50.

| DATA DA INOCULAÇÃO — 9 — IV — 1931 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Polpa mais extracto filtrado Diluição de 1/50 | | | Polpa diluida | | |
| Datas | 13 - IV - 31 | 15 - IV - 31 | 17 - IV - 31 | 13 - IV - 31 | 15 - IV - 31 | 17 - IV - 31 |
| Coelho n.° 126 | 2,0×2,0 I | 2,5×2,2 I | 2,5×2,5 I | 0,4×0,4 I | 0,8×0,8 I | 0,8×0,8 I |
| Coelho n.° 144 | 2,0×2,0 I | G | G | 1,0×1,0 I | 1,0×1,0 I | 1,0×1,0 I |

## IV

## INFLUENCIA DA QUANTIDADE DE EXTRACTO TESTICULAR

O extracto é diluido a 1/5, 1/50 e 1/500 e misturado em partes iguaes com polpa diluida a 1/25, obtendo-se assim diluição a 1/10, 1/100 e 1/1000 do extracto, ficando a polpa diluida a 1/50. Os coelhos 107 e 152 foram inoculados com 0,2 c. c. do extracto puro e 0,2 c. c. das misturas acima.

| DATA DA INOCULAÇÃO — 9 — IV — 1931 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | COELHO N.° 107 | | | COELHO N.° 152 | | |
| Datas | 11 - IV - 31 | 13 - IV - 31 | 15 - IV - 31 | 11 - IV - 31 | 13 - IV - 31 | 15 - IV - 31 |
| Extr. puro | 3,0×3,0 I | 2,0×2,0 I | G | 3,0×2,0 I | G | G |
| Extr. 1/10 | 2,0×3,0 I | G | G | 3,0×2,0 I | G | G |
| Extr. 1/100 | 1,0×1,0 I | 1,0×1,0 I | 1,0×1,0 I | 2,0×2,0 I | 2,5×2,0 I | 3,0×2,0 I |
| Extr. 1/000 | 0,5×0,5 I | 0,8×0,8 I | 0,5×0,5 I | 1,5×1,0 I | 1,5×1,5 I | 1,8×1,5 I |

Verificadas as condições do phenomeno e a influencia que sobre elle exercem o aquecimento, a filtração e a quantidade do extracto, tratámos de observar a sua acção sobre o virus puro, filtrado e sobre o virus vaccinico commum das polpas do Instituto e, finalmente procurámos determinar o seu limite de actividade afim de verificar si a influencia do extracto se exercia mais sobre o virus ou sobre o terreno.

Para a experiencia com o virus filtrado utilizámos o de uma das partidas preparadas no Instituto de n.° 4.707 (em 10-IV-1931), de actividade previamente determinada pelo methodo de Gins e que, na diluição de 1/20.000, ainda se mostrava fortemente positivo. Partindo, pois, desse titulo, dois coelhos foram injectados por via intradermica, dando os resultados que se vêm no quadro n.° V.

V

DETERMINAÇÃO DO LIMITE DE ACTIVIDADE DO VIRUS FILTRADO

| COELHO N.° 234 | | |
|---|---|---|
| DATA DA INOCULAÇÃO — 7 — V — 1931 | | |
| Titulos das diluições | Resultados | |
| | Com extracto | Sem extracto |
| 1/20.000 | G | 1,5 × 1,2 |
| 1/30.000 | G | 0,8 × 0,8 |
| 1/40.000 | G | 0,4 × 0,5 |
| 1/50.000 | G | 0,4 × 0,4 |
| 1/60.000 | G | 0,3 × 0,3 |
| 1/70.000 | G | 0,2 × 0,2 |

VI

| COELHO N.° 257 | | |
|---|---|---|
| DATA DA INOCULAÇÃO — 15 — V — 1931 | | |
| Titulos das diluições | Resultados | |
| | Com extracto | Sem extracto |
| 1/ 50.000 | 1,0 × 1,0 | 0,8 × 0,8 |
| 1/ 75.000 | G | 0,5 × 0,5 |
| 1/100.000 | (II) 0,6 × 0,6 | 0,4 × 0,4 |
| 1/125.000 | (II) 0,1 × 0,1 | 0,2 × 0,2 |
| 1/150.000 | G | (III) 0,6 × 0,1 |
| 1/200.000 | O | 0,1 × 0,1 |

Com o mesmo fim e em identicas condições inoculámos dois outros coelhos com o virus ordinario da polpa vaccinica de n.º 4.632, que se mostrava activa. em doseamento previo, até na diluição de 1/75.000; partindo desse titulo. chegámos a attingir o limite de 1/250.000 que em contacto com o extracto ainda determinava lesões generalizadas.

VII

| COELHO N.º 287 | | |
|---|---|---|
| DATA DA INOCULAÇÃO — 7 — V — 1931 | | |
| Titulos das diluições | Resultados | |
| | Com extracto | Sem extracto |
| 1/ 75.000 | G | 1,6 × 1,2 |
| 1/100.000 | G | 0,8 × 0,8 |
| 1/105.000 | G | 0,6 × 0,6 |
| 1/110.000 | G | 0,5 × 1,0 |
| 1/115.000 | G | 0,6 × 0,6 |
| 1/120.000 | G | 0,6 × 0,6 |

VIII

| COELHO N.º 255 | | |
|---|---|---|
| DATA DA INOCULAÇÃO — 15 — V — 1931 | | |
| Titulos das diluições | Resultados | |
| | Com extracto | Sem extracto |
| 1/100.000 | G | 0,5 × 0,5 |
| 1/125.000 | G | 0,7 × 0,7 |
| 1/150.000 | G | 1,0 × 1,0 |
| 1/175.000 | G | 0,3 × 0,4 |
| 1/200.000 | G | 0,3 × 0,3 |
| 1/250.000 | G | 0,5 × 0,5 |

## LOCALIZAÇÃO DO VIRUS, PREVIAMENTE INOCULADO POR VIA VENOSA, NA PELLE DE COELHOS, INJECTADOS POR VIA DERMICA COM EXTRACTO TESTICULAR

Quatro coelhos recebem, em tres pontos da pelle depilada, 0,5 c. c. de extracto testicular puro, 0,5 c. c. de extracto diluido a 1/10 e 0,5 c. c. de extracto diluido a 1/100; dois outros recebem em região não irritada (pelos cortados á tesoura).

0,2 c. c. de extracto testicular 24 e 48 horas depois da inoculação de 2 c. c. do virus puro e 2 c. c. da polpa vaccinica na diluição 1/25, por via venosa, respectivamente.

IX

| N.º do coelho | Material inoculado | Data da Inoc. do extr. | Diluição do extracto | | | Observações |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Ext. puro | Ext. 1/10 | Ext. 1/100 | |
| 130 | Virus puro | 10.IV.1931 | G. | G. | G. | Pelle depilada (irritada) e extracto inoculado ao mesmo tempo. |
| 108 | " | " | G | G | G | |
| 129 | Polpa 1/25 | " | G | G | G | |
| 140 | " | " | G | G | G | |
| 115 | Virus puro | 6.XI.1931 | G | G | G | |
| 55 | Polpa 1/25 | " | G | G | G | |

TESTEMUNHAS

| N.º do coelho | Data da Inoc. do virus puro | Area irritada | | Area não irritada |
|---|---|---|---|---|
| | | Não inoculada com extracto | Inoculada c/ salina | Inoculada c/ extracto |
| 80 | 15.IV.1931 | G | G | ⊖ |
| 119 | " | G | G | ⊖ |
| 48 | 4.XI.1931 | G | G | ⊖ |
| 67 | " | G | G | ⊖ |

## DUSCUSSÃO E SUMMARIO

As experiencias descriptas nestes ensaios confirmam a realidade do phenomeno de Duran-Reynals e mostram que o augmento da actividade do virus vaccinico, tanto em estado de pureza, como de mistura com os germes da polpa, é exercido pela acção do extracto testicular e que esse augmento soffre evidentemente influencia quando o mesmo extracto é aquecido ou filtrado. Diminue

tambem a sua acção á medida que se reduz a quantidade de mistura com o virus ou a polpa.

A possibilidade de ter á mão o virus vaccinico puro filtrado favoreceu o estudo isolado da influencia directa do extracto sobre o mesmo isento inteiramente de germes, que, sendo sensiveis, do mesmo modo á influencia do extracto, poderiam invalidar, até certo ponto, a conclusão de que, pelo augmento das lesões vaccinicas, só o respectivo virus devia ser responsabilizado.

Os resultados foram plenamente satisfactorios quanto á influencia directa do extracto testicular sobre o virus, ocasionando augmento das lesões, quando não a sua generalização com os caracteristicos todos descriptos por Duran-Reynals.

Procurando elucidar si a influencia do extracto se exerceria sobre o terreno ou sobre o virus, realizámos algumas experiencias que nos demonstraram, claramente, que tal acção se limita á diffusão do virus no tecido. Com effeito, os resultados de determinação do limite de actividade do virus, de mistura com o extracto testicular, comparativamente com o do virus diluido em salina, não demonstraram uma multiplicação do virus, o que nos leva a crer, de preferencia, na possibilidade de um processo de diffusão deste no derma.

A Duran-Reynals não escapou a mesma indagação e para isto fez inocular por via venosa o virus vaccinico e por via cutanea o extracto testicular, notando que aquelle se localizava de preferencia no ponto em que este havia sido introduzido, concluindo que só a influencia do extracto poderia determinar o facto.

De nossa parte, repetindo a experiencia acompanhada do necessario testemunho, não lográmos confirmar tal experiencia. Notámos que, só nas areas que haviam soffrido irritações pela navalha ou mesmo pelo simples arrancamento do pelo, havia localização do virus com generalização da lesão sob influencia do extracto. Nas areas, porem, não irritadas, isto é, preparada a pelle apenas com cuidadoso corte á tesoura, sem ferir o derma, nenhuma manifestação foi observada. Por outro lado, tanto a inoculação do extracto testicular, como de salina nas areas irritadas determinou identico phenomeno comprovando as conhecidas experiencias classicas de Calmette e Guerin (8), de localização do virus no derma, ao nivel das ligeiras erosões da pelle, quando elle é introduzido na circulação durante as primeiras 24 horas; "Lorsqu'on fait pénétrer directement le vaccin dans la circulation por voie intra-veineuse, on n'observe jamais chez le lapin d'eruption spontanée sur les muqueuses, comme M. Chauveau en a signalé sur le cheval. *Mais, si, dans les premières 24 heurs qui suivent l'introduction du vaccin dans les veines, on rase l'animal sur les dos, on voit apparaitre le 3e. jour, sur la région rasée, une quantité de pustules parfaitement caractéristique. Aucune pustule ne se forme dans d'autres régions*".

## CONCLUSÕES

1.º) De accordo com os resultados dessas experiencias deixamos comprovada a realidade do phenomeno de Duran-Reynals.

2.º) A exaltação das lesões determinada pelo extracto testicular é identica, tanto sobre o virus commum da polpa vaccinica, como sobre o virus puro filtrado.

3.º) O aquecimento e a filtração do extracto exercem influencia sobre o phenomeno; a intensidade das lesões é proporcional á quantidade do extracto.

4.º) A previa penetração do virus vaccinico por via venosa não occasiona localização na area do derma posterior ou concomitantemente inoculada com o extracto e sim nos pontos irritados da pelle.

5.º) O phenomeno de Duran-Reynals está mais relacionado a um processo de diffusão do virus no derma do que propriamente a uma acção directa do extracto sobre o virus.

## ABSTRACT

Experiments carried on with a view to checking up Duran-Reynals' phenomenon in relation with vaccine virus showed that the increase in the lesions as brought about by testicle extract is identical when either the virus of vaccine lymph or the pure filtered virus be employed. Heating and filtering the extract are detrimental to the phenomenon; the intensity of the lesions is proportional to the amount of the extract used. A previous intravenous inoculation of the vaccine virus does not cause this to localize in the derma area either posteriorly or simultaneously inoculated with the extract but in those points of the skin which have suffered an irritation. The Duran-Reynals' phenomenon seems to be more closely related to a diffusion process of the virus through the derma than to a direct action of the extract upon the virus.

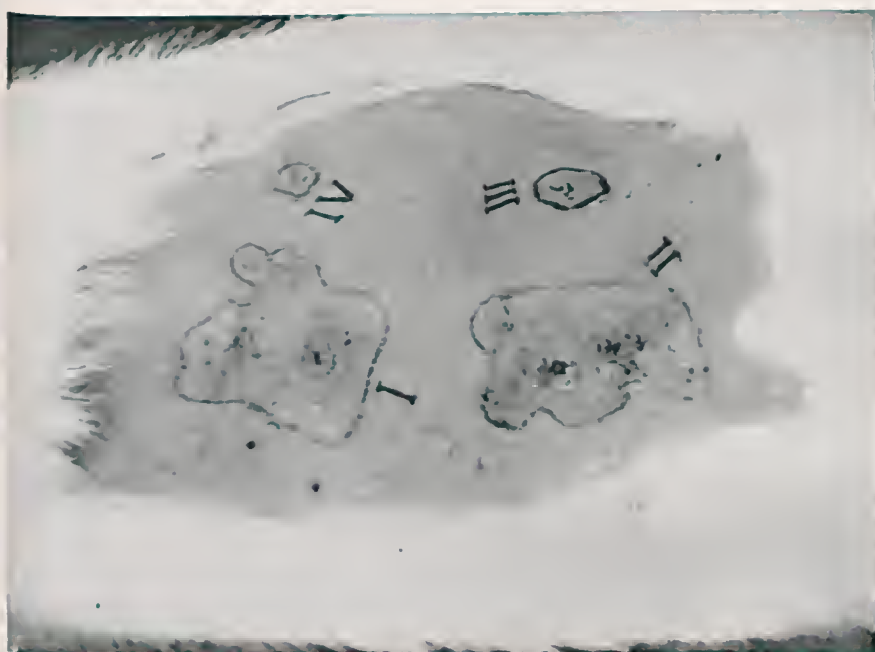
---

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Duran-Reynals, F.* — Exaltation de l'activité du virus vaccinal par les extraits de certains organes. — C. R. Soc. Biologie XCIX(19):6.1928.
2. *Duran-Reynals, F. & Suner Pi, J.* — Exaltation de l'activité du staphylocoque par les extraits testiculares. — C. R. Soc. Biologie XCIX(38):1908.1928.
3. *Duran-Reynals, F.* — The effects of certain organs from normal and immunized animals on the infecting power of vaccine virus. — J. Exper. Med. L(3):327.1929.
4. *Ledingham, G. C. J. & Barati, M. M.* — Visceral lesions that may acompany experimental vaccinia in rabbits. — Lancet CCXVII(5532):515.1929.

5. *Pijoan, M.* — The action of testicle, kidney, and spleen extracts on the infective power of bacteria. — J. Exper. Med. LII(1):37.1931.
6. *Hoffmann, C. D.* — The effect of testicular extract on filterable viruses. J. Exper. Med. LII(1):43.1931.
7. *Monteiro, J. Lemos & Godinho, R.* — A prophylaxia da variola com o emprego do virus vaccinico filtrado e puro. — Bol. Soc. Med. Cirurg. S. P. XIV(10,11 e 12):440.1931.
8. *Calmette, A. & Guerin, C.* — Recherches sur la vaccine expérimentale — Annales de l'Inst. Pasteur XV(3):161.1901.

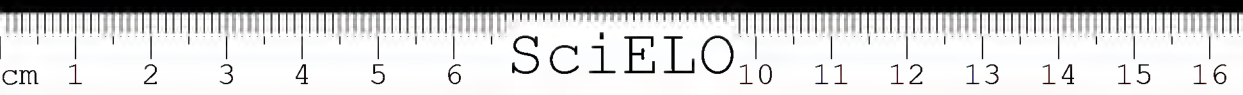
(Trabalho da Secção de Virus e Virustherapia do Instituto Butantan, apresentado á Semana do Laboratorio, Soc. Med. Cir. S. Paulo, Janeiro de 1932).

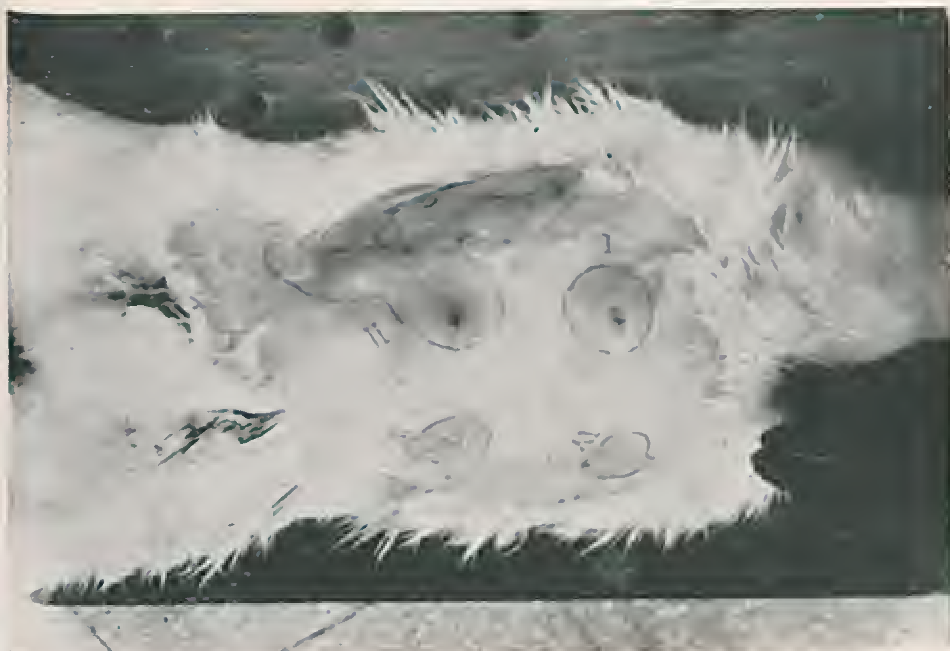



Coelho N.° 107



Coelho N.° 152

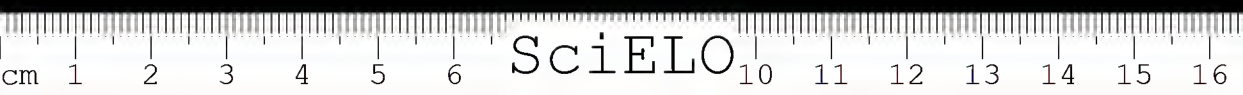

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16



Coelho N.° 127



Coelho N.° 122

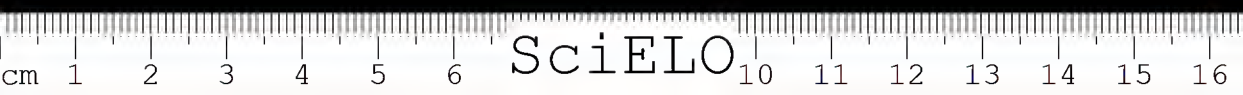

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

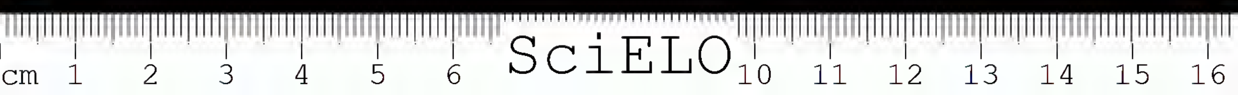
# INFLUENCIA DOS ESTAPHYLOCOCCOS SOBRE A ACTIVIDADE DO VIRUS VACCINICO

POR

J. TRAVASSOS E R. GODINHO

---


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

# Caracteristicos dos estaphylococcos pathogenicos, da polpa vaccinica e da pelle de pessoas normaes

QUADRO N.º 1

| Grupo | Ns. | Pigmento | Acção sobre a gelatina | Reducção dos nitratos | Hemolysina | Estaphylocoagulase (Prova de Much) 2 gts. | 4 gts. | 6 gts. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ESTAPHYLOCOCCOS PATHOGENICOS | 1 | O | +++ | + | + | + | + | + |
| | 2 | O | ++ | + | + | + | + | + |
| | 3 | O | +++ | + | + | + | + | + |
| | 4 | O | +++ | + | + | + | + | + |
| | 5 | O | +++ | + | + | + | + | + |
| | 6 | B | +++ | ± | + | + | + | + |
| | 7 | Of. | ++ | ± | + | + | + | + |
| | 8 | Of. | +++ | ± | + | + | + | + |
| | 9 | Of. | + | ± | ± | + | + | + |
| | 10 | Of. | +++ | + | ± | + | + | + |
| | 11 | O | + | ± | ± | + | + | + |
| | 12 | B | — | ± | ± | — | + | + |
| | 13 | O | ++ | ± | — | — | — | — |
| | 14 | O | + | ± | + | + | + | + |
| | 15 | Of. | +++ | ± | + | + | + | + |
| | 16 | Of. | ++ | + | + | + | + | + |
| | 17 | O | +++ | ± | ± | + | + | + |
| | 18 | Of. | + | ± | ± | + | + | + |
| | 19 | O | +++ | ± | ± | + | + | + |
| | 20 | O | +++ | ± | + | + | + | + |
| | 21 | Of. | +++ | ± | + | + | + | + |
| | 22 | Of. | + | ± | — | + | + | + |
| | 23 | O | +++ | + | + | + | + | + |
| | 24 | Of. | ++ | + | ± | + | + | + |
| | 25 | O | +++ | ± | ± | + | + | + |
| | 26 | Of. | +++ | ± | + | + | + | + |
| | 27 | Of. | ++ | + | + | + | + | + |
| | 28 | Of. | + | + | ± | + | + | + |
| ESTAPHYLOCOCCOS DA PELLE | 1 | O | +++ | ± | — | — | — | — |
| | 2 | B | — | ++ | + | — | — | — |
| | 3 | B | + | ++ | — | — | — | — |
| | 4 | O | ++ | ± | — | — | — | — |
| | 5 | B | ++ | + | — | — | — | — |
| | 6 | B | ++ | + | ± | — | — | — |
| | 7 | B | + | ± | ± | — | — | — |
| | 8 | B | ++ | ± | + | — | — | — |
| | 9 | L | ++ | + | — | — | — | — |
| | 10 | B | +++ | + | — | — | — | — |
| | 11 | B | — | ± | — | — | — | — |
| | 12 | Of. | +++ | ± | — | — | — | — |
| | 13 | B | +++ | + | — | — | — | — |
| | 14 | Of. | ++ | ± | — | — | — | — |
| | 15 | B | + | ++ | + | — | — | — |
| | 17 | Of. | ++ | ± | + | — | — | — |
| | 16 | O | ++ | ++ | — | — | — | — |
| | 18 | B | ++ | ++ | + | — | — | — |
| ESTAPHYLOCOCCOS DA POLPA | 1 | Of. | +++ | ++ | — | — | ± | + |
| | 2 | Of. | ++ | ++ | — | — | ± | + |
| | 3 | B | +++ | ++ | — | + | + | + |
| | 4 | Of. | +++ | ++ | — | — | — | — |
| | 5 | O | +++ | ++ | — | — | ± | + |
| | 6 | B | + | ++ | — | — | — | + |
| | 7 | O | +++ | ++ | + | + | + | + |
| | 8 | O | +++ | ++ | — | — | — | + |
| | 9 | B | +++ | ++ | — | — | — | ± |
| | 10 | Of. | +++ | ++ | — | — | ± | + |
| | 11 | B | +++ | ++ | — | — | — | ± |
| | 12 | B | — | ++ | — | — | — | + |
| | 13 | B | +++ | ++ | — | — | — | — |
| | 14 | B | + | ++ | — | — | — | — |
| | 15 | O | ++ | + | + | — | + | + |

ACÇÃO SOBRE

| Grupo | Ns. | Maltose | | | | Glycose | | | | Saccharose | | | | Levulose | | | | Lactose | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 | 1 | 2 | 5 | 10 | 1 | 2 | 5 | 10 | 1 | 2 | 5 | 10 | 1 | 2 | 5 | 10 |
| ESTAPHYLOCOCCOS PATHOGENICOS | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 2 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 3 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 4 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 5 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 6 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | — | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 7 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 8 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | — | A | AC | K |
| | 9 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 10 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 11 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 12 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 13 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 14 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 15 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 16 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 17 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 18 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 19 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 20 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 21 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 22 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 23 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 24 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 25 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 26 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 27 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| | 28 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | — | — | — | — |
| ESTAPHYLOCOCCOS DA PELLE | 1 | — | — | A | A | A | A | A | A | — | — | — | — | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 2 | A | A | A | A | A | A | K | K | — | — | — | — | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 3 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | — | — | — | A | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 4 | A | A | AC | AC | A | A | A | A | — | — | — | A | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 5 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | — | — | — | A | A | A | A | A | A / A | AC / A | AC / A | AC / A |
| | 6 | A | A | A | A | A | A | A | A | — | — | — | A | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 7 | A | A | AC | AC | A | A | A | A | — | — | — | A | A | A | A | A | A / A | AC / A | AC / A | K / A |
| | 8 | A | A | AC | AC | A | A | A | A | — | — | — | — | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 9 | — | ± | A | A | A | A | AC | AC | + | A | A | A | — | A | A | A | — | — | — | — |
| | 10 | — | — | A | A | A | A | K | K | — | — | — | A | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 11 | A | A | A | AC | A | A | A | A | — | — | A | A | — | A | A | A | — | — | — | — |
| | 12 | A | A | A | A | A | A | A | A | — | — | — | A | A | A | A | A | — | — | — | A |
| | 13 | ± | A | A | A | A | A | K | K | — | — | — | — | A | A | A | A | — | — | — | A |
| | 14 | — | A | AC | AC | A | A | AC | AC | — | — | A | A | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 15 | A | AC | AC | AC | — | — | A | A | ± | A | A | A | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 17 | A | AC | AC | AC | A | A | A | A | — | A | A | A | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 16 | — | ± | A | A | A | A | A | A | — | — | — | — | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 18 | ± | A | AC | AC | A | A | A | A | — | — | A | A | A | A | A | A | — | — | — | — |
| ESTAPHYLOCOCCOS DA POLPA | 1 | A | A | K | K | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | AC | A | A | AC | K |
| | 2 | A | A | K | K | AC | AC | AC | K | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | AC | AC | AC | AC |
| | 3 | A | A | K | K | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | A | A | K | K |
| | 4 | AC | AC | AC | K | A | AC | AC | AC | A | A | AC | AC | A | A | A | A | A | A | AC | AC |
| | 5 | AC | AC | AK | KC | AC | AC | AC | KC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | AC | AC | AC | AC |
| | 6 | A | A | K | K | A | A | AC | AC | A | A | AC | AC | A | A | A | A | A | A | AC | KC |
| | 7 | AC | AC | AC | KC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | AC | AC | AC | AC |
| | 8 | AC | AC | AC | K | AC | AC | K | K | AC | AC | AC | K | A | A | A | A | AC | AC | K | K |
| | 9 | A | A | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 10 | A | A | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | A | A | AC | KC |
| | 11 | A | A | K | K | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | A | A | AC | AC |
| | 12 | A | A | K | K | A | A | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | — | — | — | — |
| | 13 | A | A | K | K | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | A | A | K | K |
| | 14 | A | A | K | K | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | AC | AC | AC | AC |
| | 15 | A | A | A | K | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | A | A | K | K |

| Grupo | Ns. | Mannita | | | | Raffinose | | | | Salycina | | | | Inulina | | | | Glycerina | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 | 1 | 2 | 5 | 10 | 1 | 2 | 5 | 10 | 1 | 2 | 5 | 10 | 1 | 2 | 5 | 10 |
| ESTAPHYLOCOCCOS PATHOGENICOS | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 2 | ± | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| | 3 | ± | AC | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| | 4 | ACC | ACC | ACC | AGC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | AC |
| | 5 | ± | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | AC |
| | 6 | — | — | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | — |
| | 7 | ± | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | AC |
| | 8 | ACP | ACP | ACP | ACP | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | A | AC |
| | 9 | ± | ± | ± | AC | — | AC | AC | AC | — | — | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 10 | + | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | AC |
| | 11 | — | — | A | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | AC | AC |
| | 12 | — | — | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 13 | + | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± |
| | 14 | + | ± | AC | ACP | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | AC | ACP |
| | 15 | ± | ± | AC | AC | AC | ACP | ACP | ACP | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | + |
| | 16 | ± | AC | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | AC |
| | 17 | — | — | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| | 18 | ± | AC | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | AC |
| | 19 | ± | ± | AC | ACP | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A |
| | 20 | ± | AC | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 21 | ± | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | AC |
| | 22 | ± | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | AC |
| | 23 | ± | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| | 24 | ± | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | AC | AC |
| | 25 | ± | AC | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 26 | ± | AC | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| | 27 | ± | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 28 | ± | ± | AC | AC | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| ESTAPHYLOCOCCOS DA PELLE | 1 | — | — | — | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A | K | K |
| | 2 | — | — | A | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A | K | K |
| | 3 | — | — | ± | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 4 | — | — | ± | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 5 | — | — | — | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 6 | — | — | ± | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 7 | — | — | — | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A | K | K |
| | 8 | — | — | — | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A |
| | 10 | — | — | — | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A | K | K |
| | 11 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 12 | — | — | A | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 13 | — | — | ± | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 14 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 15 | — | — | ± | A | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A | A |
| | 17 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 16 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 18 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| ESTAPHYLOCOCCOS DA POLPA | 1 | — | — | — | — | A | A | K | K | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | ± | ± | ± | K |
| | 2 | — | — | ± | ± | A | A | K | K | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | ± | ± | ± | ± |
| | 3 | — | — | + | ± | A | A | K | K | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | ± | ± | A | A |
| | 4 | — | ± | A | K | A | A | K | K | — | ± | ± | K | A | A | K | K | — | — | — | — |
| | 5 | A | A | A | A | A | A | K | K | ± | K | K | K | A | A | K | K | A | A | A | A |
| | 6 | — | — | — | — | A | A | K | K | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | A | A | K | K |
| | 7 | A | A | A | A | A | A | K | K | ± | K | K | K | A | A | K | K | A | A | K | K |
| | 8 | AC | AC | AC | KC | A | A | K | K | A | A | A | A | A | A | AC | K | A | A | AC | K |
| | 9 | — | A | A | A | A | A | A | K | ± | A | A | K | A | A | AC | K | A | A | AC | AC |
| | 10 | — | A | A | K | — | — | — | — | ± | A | A | K | A | A | AC | K | A | A | AC | K |
| | 11 | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | A | A | AC | AC |
| | 12 | — | — | — | — | A | A | K | K | ± | K | K | K | A | A | K | K | A | A | AC | AC |
| | 13 | — | ± | ± | ± | — | — | — | — | ± | ± | ± | K | ± | ± | ± | K | A | A | AC | KC |
| | 14 | A | A | A | K | A | A | K | K | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | A | A | AC | KC |
| | 15 | — | — | — | — | — | A | K | K | ± | A | K | K | A | ± | K | K | — | A | AC | K |

LEGENDA:

O = ouro
of = ouro forte
B = branco
L = côr de limão
A = acido

AC = acido e coagulação do meio
± = fracamente acido
K = alcalino
P = proteolyse
— = nenhuma alteração do meio

# Caracteristicos dos estaphylococcos pathogenicos, da polpa vaccinica e da pelle de pessoas normaes

QUADRO N.º 1

| Ns. | Pigmento | Acção sobre a gelatina | Reducção dos nitratos | Hemolysina | Estaphylocoagulase (Prova de Much) 2 gts. | 4 gts. | 6 gts. | Acção sobre: Maltose 1 | Maltose 2 | Maltose 5 | Maltose 10 | Glycose 1 | Glycose 2 | Glycose 5 | Glycose 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ESTAPHYLOCOCCOS PATHOGENICOS** | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | O | +++ | + | + | + | + | + | | | | | | | | |
| 2 | O | ++ | + | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 3 | O | +++ | + | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 4 | O | +++ | + | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 5 | O | +++ | + | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 6 | B | +++ | + | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 7 | Of. | ++ | + | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 8 | Of. | +++ | ± | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 9 | Of. | ± | + | ± | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 10 | Of. | +++ | + | ± | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 11 | O | + | ± | ± | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 12 | B | — | + | — | — | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 13 | O | ++ | ± | — | — | — | — | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 14 | O | + | ± | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 15 | Of. | +++ | ± | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 16 | Of. | ++ | + | ± | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 17 | O | +++ | ± | ± | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 18 | Of. | + | + | ± | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 19 | O | +++ | ± | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 20 | O | +++ | ± | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 21 | Of. | +++ | ± | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 22 | Of. | + | + | — | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 23 | O | +++ | + | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 24 | Of. | ++ | + | ± | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 25 | O | +++ | ± | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 26 | Of. | +++ | + | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 27 | Of. | ++ | + | + | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 28 | Of. | + | ± | ± | + | + | + | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| **ESTAPHYLOCOCCOS DA PELLE** | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | O | +++ | + | — | — | — | — | — | — | A | A | A | A | A | A |
| 2 | B | — | ++ | + | — | — | — | A | A | A | A | A | A | K | K |
| 3 | B | + | ++ | — | — | — | — | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A |
| 4 | O | ++ | ± | — | — | — | — | A | A | AC | AC | A | A | A | A |
| 5 | B | ++ | + | — | — | — | — | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A |
| 6 | B | ++ | ± | + | — | — | — | A | A | A | A | A | A | A | A |
| 7 | B | + | ± | + | — | — | — | A | A | AC | AC | A | A | A | A |
| 8 | B | ++ | + | + | — | — | — | A | A | AC | AC | A | A | A | A |
| 9 | L. | ++ | + | — | — | — | — | — | ± | A | A | A | A | AC | AC |
| 10 | B | +++ | + | — | — | — | — | — | — | A | A | A | A | K | K |
| 11 | B | — | ± | — | — | — | — | A | A | A | AC | A | A | A | A |
| 12 | Of. | +++ | ± | — | — | — | — | A | A | A | A | A | A | A | A |
| 13 | B | +++ | + | — | — | — | — | ± | A | A | A | A | A | K | K |
| 14 | Of. | ++ | ± | — | — | — | — | — | A | AC | AC | A | A | AC | AC |
| 15 | B | + | ++ | + | — | — | — | A | AC | AC | AC | — | — | A | A |
| 17 | Of. | ++ | ± | + | — | — | — | A | AC | AC | AC | A | A | A | A |
| 16 | O | ++ | ++ | — | — | — | — | — | ± | A | A | A | A | A | A |
| 18 | B | ++ | ++ | + | — | — | — | ± | A | AC | AC | A | A | A | A |
| **ESTAPHYLOCOCCOS DA POLPA** | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | Of. | +++ | ++ | — | — | ± | + | A | A | K | K | AC | AC | AC | AC |
| 2 | Of. | ++ | ++ | — | — | ± | + | A | A | K | K | AC | AC | AC | K |
| 3 | B | +++ | ++ | — | + | + | + | A | A | K | K | AC | AC | AC | AC |
| 4 | Of. | +++ | ++ | — | — | — | — | AC | AC | AC | K | A | AC | AC | AC |
| 5 | O | +++ | ++ | — | — | ± | + | AC | AC | AK | KC | AC | AC | AC | KC |
| 6 | B | + | ++ | — | — | — | + | A | A | K | K | A | A | AC | AC |
| 7 | O | +++ | ++ | + | + | + | + | AC | AC | AC | KC | AC | AC | AC | AC |
| 8 | O | +++ | ++ | — | — | — | + | AC | AC | AC | K | AC | AC | K | K |
| 9 | B | +++ | ++ | — | — | — | ± | A | A | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 10 | Of. | +++ | ++ | — | — | ± | + | A | A | AC | AC | AC | AC | AC | AC |
| 11 | B | +++ | ++ | — | — | — | + | A | A | K | K | AC | AC | AC | AC |
| 12 | B | — | ++ | — | — | — | + | A | A | K | K | A | A | AC | AC |
| 13 | B | +++ | ++ | — | — | — | — | A | A | K | K | AC | AC | AC | AC |
| 14 | B | + | ++ | — | — | — | — | A | A | K | K | AC | AC | AC | AC |
| 15 | O | ++ | + | + | — | + | + | A | A | A | K | AC | AC | AC | AC |

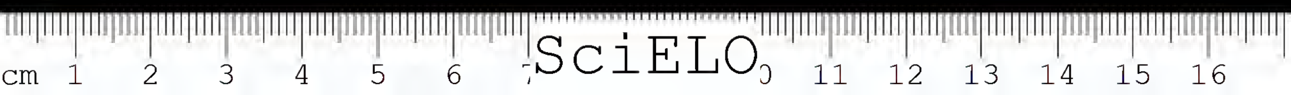
| Ns. | Saccharose 1 | Saccharose 2 | Saccharose 5 | Saccharose 10 | Levulose 1 | Levulose 2 | Levulose 5 | Levulose 10 | Lactose 1 | Lactose 2 | Lactose 5 | Lactose 10 | Mannita 1 | Mannita 2 | Mannita 5 | Mannita 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ESTAPHYLOCOCCOS PATHOGENICOS** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 3 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | AC | AC | AC |
| 4 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ACG | ACG | ACG | AGC |
| 5 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 6 | — | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | — | — | AC | AC |
| 7 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 8 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | — | A | AC | K | ACP | ACP | ACP | ACP |
| 9 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | ± | AC |
| 10 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 11 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | — | — | A | AC |
| 12 | AC | AC | AC | AC | A | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | — | — | AC | AC |
| 13 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 14 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | ACP |
| 15 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 16 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | AC | AC | AC |
| 17 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | — | — | AC | AC |
| 18 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | AC | AC | AC |
| 19 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | ACP |
| 20 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | AC | AC | AC |
| 21 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 22 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 23 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 24 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 25 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | AC | AC | AC |
| 26 | ± | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | AC | AC | AC |
| 27 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | ± | ± | AC | AC |
| 28 | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | AC | — | — | — | — | ± | ± | AC | AC |
| **ESTAPHYLOCOCCOS DA PELLE** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | — | — | — | — | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | — | A |
| 2 | — | — | — | — | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | A | A |
| 3 | — | — | — | A | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | ± | A |
| 4 | — | — | — | A | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | ± | A |
| 5 | — | — | — | A | A | A | A | A | A / A | AC / A | AC / A | AC / A | — | — | — | A |
| 6 | — | — | — | A | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | ± | A |
| 7 | — | — | — | A | A | A | A | A | A / A | AC / A | AC / A | K / A | — | — | — | A |
| 8 | — | — | — | — | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | — | A |
| 9 | ± | A | A | A | — | A | A | A | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 10 | — | — | — | A | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | — | ± |
| 11 | — | — | A | A | — | A | A | A | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 12 | — | — | — | A | A | A | A | A | — | — | — | A | — | — | A | A |
| 13 | — | — | — | — | A | A | A | A | — | — | — | A | — | — | ± | A |
| 14 | — | — | A | A | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 15 | ± | A | A | A | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | ± | A |
| 17 | — | A | A | A | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 16 | — | — | — | — | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 18 | — | — | A | A | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | — | — |
| **ESTAPHYLOCOCCOS DA POLPA** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | AC | A | A | AC | K | — | — | — | — |
| 2 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | AC | AC | AC | AC | — | — | ± | ± |
| 3 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | A | A | K | K | — | — | ± | ± |
| 4 | A | A | AC | AC | A | A | A | A | A | A | AC | AC | — | ± | A | K |
| 5 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A |
| 6 | A | A | AC | AC | A | A | A | A | A | A | AC | KC | — | — | — | — |
| 7 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A |
| 8 | AC | AC | AC | K | A | A | A | A | AC | AC | K | K | AC | AC | AC | KC |
| 9 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | — | — | — | — | — | A | A | A |
| 10 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | A | A | AC | KC | — | A | A | K |
| 11 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | A | A | AC | AC | — | — | — | — |
| 12 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 13 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | A | A | K | K | — | ± | ± | ± |
| 14 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | AC | AC | AC | AC | A | A | A | K |
| 15 | AC | AC | AC | AC | A | A | A | A | A | A | K | K | — | — | — | — |

| Ns. | Raffinose 1 | Raffinose 2 | Raffinose 5 | Raffinose 10 | Salycina 1 | Salycina 2 | Salycina 5 | Salycina 10 | Inulina 1 | Inulina 2 | Inulina 5 | Inulina 10 | Glycerina 1 | Glycerina 2 | Glycerina 5 | Glycerina 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ESTAPHYLOCOCCOS PATHOGENICOS** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | AC |
| 5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | AC |
| 6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | — |
| 7 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | AC |
| 8 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | A | AC |
| 9 | — | AC | AC | AC | — | — | ± | ± | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 10 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | AC |
| 11 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | AC | AC |
| 12 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 13 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± |
| 14 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | AC | ACP |
| 15 | AC | ACP | ACP | ACP | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | + |
| 16 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | AC |
| 17 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| 18 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | AC |
| 19 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A |
| 20 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 21 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | AC |
| 22 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | AC |
| 23 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| 24 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | AC | AC |
| 25 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 26 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| 27 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 28 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | AC |
| **ESTAPHYLOCOCCOS DA PELLE** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A | K | K |
| 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A | K | K |
| 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 7 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A | K | K |
| 8 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A |
| 10 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A | K | K |
| 11 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 12 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 13 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 14 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 15 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | A | A | A |
| 17 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 16 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 18 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| **ESTAPHYLOCOCCOS DA POLPA** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | A | A | K | K | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | ± | ± | ± | K |
| 2 | A | A | K | K | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | ± | ± | ± | ± |
| 3 | A | A | K | K | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | ± | ± | A | A |
| 4 | A | A | K | K | — | ± | ± | K | A | A | K | K | — | — | — | — |
| 5 | A | A | K | K | ± | K | K | K | A | A | K | K | A | A | A | A |
| 6 | A | A | K | K | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | A | A | K | K |
| 7 | A | A | K | K | ± | K | K | K | A | A | K | K | A | A | K | K |
| 8 | A | A | K | K | A | A | A | A | A | A | AC | K | A | A | AC | K |
| 9 | A | A | A | K | ± | A | A | K | A | A | AC | K | A | A | AC | AC |
| 10 | — | — | — | — | ± | A | A | K | A | A | AC | K | A | A | AC | K |
| 11 | — | — | — | — | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | A | A | AC | AC |
| 12 | A | A | K | K | ± | K | K | K | A | A | K | K | A | A | AC | AC |
| 13 | — | — | — | — | ± | ± | ± | K | ± | ± | ± | K | A | A | AC | KC |
| 14 | A | A | K | K | ± | ± | ± | K | A | A | K | K | A | A | AC | KC |
| 15 | — | A | K | K | ± | A | K | K | A | ± | K | K | — | A | AC | K |

LEGENDA:

O = ouro
of = ouro forte
B = branco
L = côr de limão
A = acido

AC = acido e coagulação do meio
± = fracamente acido
K = alcalino
P = proteolyse
— = nenhuma alteração do meio


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

## PESQUISA DO VIRUS VACCINICO NA CELLULA ESTAPHYLOCOCCICA

### QUADRO N.º 2

| | | | 2 dias | 4 dias | 6 dias | 8 dias | 10 dias | Prova de immunid. (Virus puro diluido a 1/10) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| POLPA 4687 | Staphyl. aureus (Cobaia 50) | Emulsão pura | — | — | — | — | — | ++ |
| | | Dil. 1/1 % | — | — | — | — | — | ++ |
| | Staphyl. albus (Cobaia 108) | Emulsão pura | ++ | — | — | — | — | ++ |
| | | Dil. a 1 % | + | — | — | — | — | ++ |
| POLPA 4619 | Staphyl. aureus (Cobaia 26) | Emulsão pura | +++ | ++ | + | + | ± | ++++ |
| | | Dil. a 1 % | +++ | ± | — | — | — | ++++ |
| | Staphyl. albus (Cobaia 37) | Emulsão pura | + | — | — | — | — | — |
| | | Dil. a 1 % | + | — | — | — | — | +++ |
| POLPA 4667 | Staphyl. aureus (Cobaia 43) | Emulsão pura | +++ | + | ± | — | — | ++++ |
| | | Dil. a 1 % | — | — | — | — | — | — |
| | Staphyl. albus (Cobaia 112) | Emulsão pura | + | — | — | — | — | ++ |
| | | Dil. a 1 % | — | — | — | — | — | ± |
| TESTEMUNHAS | | | | | | | | |
| | Staphyl. albus (saprophyta pelle) (Cobaia 36) | Emulsão pura | ± | — | — | — | — | ++ |
| | | Dil. a 1 % | — | — | — | — | — | ± |
| | Staphyl. aureus (pathogen.) (Cobaia 884) | Emulsão pura | ++ | +++ | ++ | + | ± | ++ |
| | | Dil. a 1 % | — | — | — | — | — | + |

— a ++++ = differentes gráos de reacção



Esta

| 2 H |
| --- |
| 3 |

| | |
| --- | --- |
| — | |
| — | |
| + | |
| — | No |
| — | |
| — | |
| + | |
| — | |
| — | |
| — | |
| + | |
| — | |
| — | |
| — | |

# Adsorpção do Virus Vaccinico pela Cellula Estaphylococcica

QUADRO N.º 3

| | | 2 horas de contacto 10° | | | | | | | Prova de immunidade | | | | | | | 2 horas de contacto 37° | | | | | | | Prova de immunidade | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Cellulas vivas** — Dias | | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | 10 | 15 | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | 10 | 15 | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | 10 | 15 | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | 10 | 15 |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. aureus da Polpa 4687 | L. S. 1/100 | + | + | ++ | +++ | ++ | + | − | ± | ± | + | − | − | − | − | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| | L. S. 1/1.000 | + | ± | − | − | − | − | − | ++ | ++ | +++ | + | ± | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/100 | + | ++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | + | ± | ± | − | − | − | − | − | + | + | † | | | | | | | | | | | |
| | EST. 1/1.000 | − | − | − | − | − | − | − | + | + | +++ | + | ± | − | − | − | − | No 5.º dia | | | | | | | | | | | |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. albus da Polpa 4619 | L. S. 1/100 | + | + | ++ | ++ | +++ | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| | L. S. 1/1.000 | + | + | ± | − | − | − | − | + | ++ | ++ | ± | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/100 | + | + | ++ | +++ | +++ | ++ | − | ± | − | − | − | − | − | − | + | + | ++ | ++ | + | ± | − | + | − | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/1.000 | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. albus Saprophyta da pelle | L. S. 1/100 | + | + | + | ± | − | − | − | ± | − | + | ± | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | ++ | +++ | +++ | + | ± | − | − |
| | L. S. 1/1.000 | − | − | ++ | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | + | − | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/100 | + | + | + | +++ | +++ | ++ | − | ± | − | − | − | − | − | − | + | + | − | − | − | − | − | + | ++ | ++ | ± | − | − | − |
| | EST. 1/1.000 | − | − | + | + | ++ | − | − | − | − | − | − | − | − | − | + | − | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. Pathog. n.º 27 | L. S. 1/100 | − | − | +++ | ++++ | ++++ | +++ | − | ± | − | ± | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | ++ | ++ | +++ | +++ | + | ± | − |
| | L. S. 1/1.000 | − | − | ++ | ++++ | +++ | +++ | − | ± | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | + | ± | ± | − | − | − | − |
| | EST. 1/100 | + | + | ± | + | ++ | ± | − | + | ± | − | − | − | − | − | + | ++ | ++ | ++ | + | ± | − | − | − | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/1.000 | − | − | − | − | − | − | − | + | +++ | ++++ | +++ | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | ± | − | ± | − | − | − | − |
| **Cellulas mortas** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. aureus da Polpa 4687 | L. S. 1/100 | + | + | + | ± | ± | − | − | ± | − | − | − | − | − | − | + | + | +++ | ++ | + | ± | − | − | − | − | − | − | − | − |
| | L. S. 1/1.000 | − | − | − | − | − | − | − | ± | + | +++ | ++++ | ++ | + | − | − | − | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/100 | − | − | − | − | − | − | − | + | +++ | + | ± | − | − | − | + | − | − | − | − | − | − | ± | − | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/1.000 | − | − | − | − | − | − | − | ± | ++ | +++ | + | ± | − | − | − | − | ± | ± | ± | − | − | ± | − | − | − | − | − | − |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. albus da Polpa 4619 | L. S. 1/100 | + | + | ++ | +++ | ++++ | +++ | − | − | ± | − | − | − | − | − | + | + | ++ | +++ | ++ | + | − | ± | − | − | − | − | − | − |
| | L. S. 1/1.000 | − | − | − | − | − | − | − | + | ++ | ++++ | ++++ | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/100 | + | + | +++ | +++ | +++ | ± | − | + | ± | ± | − | − | − | − | ++ | ++ | +++ | ++++ | ++++ | ++ | − | ± | + | ± | − | − | − | − |
| | EST. 1/1.000 | − | + | ++ | ++ | ++ | − | − | − | − | − | − | − | − | − | + | + | +++ | ++++ | +++ | + | − | ± | ± | − | − | − | − | − |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. albus Saprophyta da pelle | L. S. 1/100 | + | + | +++ | ++++ | +++ | + | − | ± | ± | ± | − | − | − | − | + | ± | ++ | +++ | ++ | + | − | ± | ++ | ++ | − | − | − | − |
| | L. S. 1/1.000 | − | − | − | − | − | − | − | ± | ++ | +++ | ++ | − | − | − | − | ± | + | +++ | +++ | ++ | − | + | + | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/100 | +++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | − | + | + | + | − | − | − | − | + | + | ++ | +++ | ++ | + | − | − | + | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/1.000 | − | − | − | − | − | − | − | + | ++ | + | ± | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | ± | ± | ++ | +++ | ++ | + | − |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. Pathog. n.º 27 | L. S. 1/100 | + | + | +++ | +++ | ++ | + | − | ± | + | ± | − | − | − | − | ++ | ++ | +++ | + | ± | − | − | ± | ++ | ± | ± | − | − | − |
| | L. S. 1/1.000 | − | − | − | − | − | − | − | ++ | +++ | ++++ | ++ | + | ± | − | − | − | − | − | − | − | − | + | ++ | +++ | ++ | ± | − | − |
| | EST. 1/100 | + | ± | ++ | ± | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | + | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | − | + | ± | − | − | − | − | − |
| | EST. 1/1.000 | − | − | ++ | − | − | − | − | + | ++++ | ++++ | ++ | ± | ± | − | − | − | − | − | − | − | − | − | + | + | − | − | − | − |
| Testemunha Actividade do virus | 1/100 | ++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | − | | ± | ± | ± | − | − | − | ++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | − | | ± | ± | − | − | − | − |
| | 1/1.000 | + | ++ | ++++ | ++++ | +++ | ++ | − | | ± | ± | − | − | − | − | + | + | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | − | | ± | ± | − | − | − | − |
| Testemunha Acção pathog. do estaphylococco Albus saprophyta da pelle | Puro | + | − | − | − | − | − | − | ± | ++ | ++ | +++ | ++ | ± | − | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1/100 | − | − | − | − | − | − | − | ± | ± | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | | | | | |
| Testemunha Acção pathog. do estaphylococco Pathogenico n.º 27 | Puro | ++ | +++ | +++ | ++ | ± | − | − | + | ++ | +++ | +++ | ++ | − | − | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1/100 | − | − | − | − | − | − | − | − | − | ± | + | − | − | − | | | | | | | | | | | | | | |
| Testemunha Acção pathog. do estaphylococco Aureus da polpa 4687 | Puro | − | − | − | − | − | − | − | − | ± | ++ | ++ | + | − | − | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1/100 | − | − | − | − | − | − | − | − | + | + | + | ± | − | − | | | | | | | | | | | | | | |
| Acção pathog. do estaphylococco Albus da polpa 4619 | Puro | + | ± | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1/100 | + | ± | − | − | − | − | − | ± | ++ | +++ | +++ | + | − | − | | | | | | | | | | | | | | |

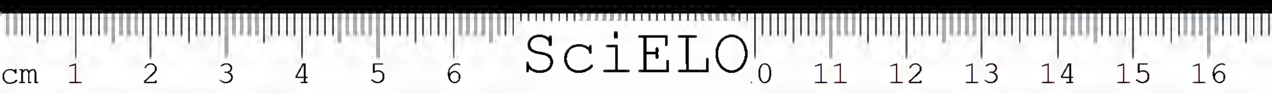
LEGENDA:
- L. S. = Liquido sobrenadante
- Est. = Estaphylococco
- — = Negativo
- + a ++++ = Varias intensidades de lesões

# Adsorpção do Virus Vaccinico pela Cellula Estaphylococcica

QUADRO N.º 3

| CELLULAS VIVAS | | | 2 HORAS DE CONTACTO 10° | | | | | | | PROVA DE IMMUNIDADE | | | | | | | 2 HORAS DE CONTACTO 37° | | | | | | | PROVA DE IMMUNIDADE | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| DIAS | | | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | 10 | 15 | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | 10 | 15 | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | 10 | 15 | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | 10 | 15 |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. aureus da Polpa 4687 | L. S. | 1/100 | + | + | ++ | +++ | ++ | ± | — | ± | ± | + | — | — | — | — | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | + | ± | — | — | — | — | — | ++ | ++ | +++ | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | EST. | 1/100 | + | ++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | + | ± | ± | — | — | — | — | — | + | + | † | | | | | | | | | | | |
| | | 1/1.000 | — | — | — | — | — | — | — | + | + | +++ | + | ± | — | — | — | — | No 5.º dia | | | | | | | | | | | |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. albus da Polpa 4619 | L. S. | 1/100 | + | + | ++ | ++ | +++ | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | + | + | ± | — | — | — | — | + | ++ | ++ | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | EST. | 1/100 | + | + | ++ | +++ | +++ | ++ | — | ± | — | — | — | — | — | — | + | + | ++ | ++ | + | ± | — | + | — | — | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. albus Saprophyta da pelle | L. S. | 1/100 | + | + | + | ± | — | — | — | ± | — | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ++ | +++ | +++ | + | ± | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | ++ | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | — | — |
| | EST. | 1/100 | + | + | + | +++ | +++ | ++ | — | ± | — | — | — | — | — | — | + | + | — | — | — | — | — | + | ++ | ++ | ± | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | + | + | ++ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | — | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. Pathog. n.º 27 | L. S. | 1/100 | — | — | +++ | ++++ | ++++ | +++ | — | ± | — | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ++ | ++ | +++ | +++ | + | ± | — |
| | | 1/1.000 | — | — | ++ | ++++ | +++ | +++ | — | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | ± | ± | — | — | — | — |
| | EST. | 1/100 | + | + | ± | + | ++ | ± | — | + | ± | — | — | — | — | — | + | ++ | ++ | ++ | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | — | — | — | — | — | + | +++ | ++++ | +++ | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | — | ± | — | — | — | — |
| CELLULAS MORTAS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. aureus da Polpa 4687 | L. S. | 1/100 | + | + | + | ± | ± | — | — | ± | — | — | — | — | — | — | + | + | +++ | ++ | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | — | — | — | — | — | ± | + | +++ | ++++ | ++ | + | — | — | — | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | EST. | 1/100 | — | — | — | — | — | — | — | + | +++ | + | ± | — | — | — | + | — | — | — | — | — | — | ± | — | — | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | — | — | — | — | — | ± | ++ | +++ | + | ± | — | — | — | — | ± | ± | ± | — | — | ± | — | — | — | — | — | — |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. albus da Polpa 4619 | L. S. | 1/100 | + | + | ++ | +++ | ++++ | +++ | — | — | ± | — | — | — | — | — | + | + | ++ | +++ | ++ | + | — | ± | — | — | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | — | — | — | — | — | + | ++ | ++++ | ++++ | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | EST. | 1/100 | + | + | +++ | +++ | +++ | ± | — | + | ± | ± | — | — | — | — | ++ | ++ | +++ | ++++ | ++++ | ++ | — | ± | + | ± | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | + | ++ | ++ | ++ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | + | +++ | ++++ | +++ | + | — | ± | ± | — | — | — | — | — |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. albus Saprophyta da pelle | L. S. | 1/100 | + | + | +++ | ++++ | +++ | + | — | ± | ± | ± | — | — | — | — | + | ± | ++ | +++ | ++ | + | — | ± | ++ | ++ | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | — | — | — | — | — | ± | ++ | +++ | ++ | — | — | — | — | ± | + | +++ | +++ | ++ | — | + | + | — | — | — | — | — |
| | EST. | 1/100 | +++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | — | + | + | + | — | — | — | — | + | + | ++ | +++ | ++ | + | — | — | + | — | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | — | — | — | — | — | + | ++ | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | ++ | +++ | ++ | + | — |
| 1 cc. virus + 1 cc. Est. Pathog. n.º 27 | L. S. | 1/100 | + | + | +++ | +++ | ++ | + | — | ± | + | ± | — | — | — | — | ++ | ++ | +++ | + | ± | — | — | ± | ++ | ± | ± | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | — | — | — | — | — | ++ | +++ | ++++ | ++ | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | + | ++ | +++ | ++ | ± | — | — |
| | EST. | 1/100 | + | ± | ++ | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | — | + | ± | — | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | — | — | ++ | — | — | — | — | + | ++++ | ++++ | ++ | ± | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | + | — | — | — | — |
| Testemunha Actividade do virus | | 1/100 | ++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | — | | ± | ± | ± | — | — | — | ++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | — | | ± | ± | — | — | — | — |
| | | 1/1.000 | + | ++ | ++++ | ++++ | +++ | ++ | — | | ± | ± | — | — | — | — | + | + | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | — | | ± | ± | — | — | — | — |
| Testemunha Acção pathog. do estaphylococco Albus saprophyta da pelle | | Puro | + | — | — | — | — | — | — | ± | ++ | ++ | +++ | ++ | ± | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1/100 | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | — | — | — | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| Testemunha Acção pathog. do estaphylococco Pathogenico n.º 27 | | Puro | ++ | +++ | +++ | ++ | ± | — | — | + | ++ | +++ | +++ | ++ | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1/100 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | + | — | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| Testemunha Acção pathog. do estaphylococco Aureus da polpa 4687 | | Puro | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ++ | ++ | + | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1/100 | — | — | — | — | — | — | — | — | + | + | + | ± | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| Acção pathog. do estaphylococco Albus da polpa 4619 | | Puro | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1/100 | + | ± | — | — | — | — | — | ± | ++ | +++ | +++ | + | — | — | | | | | | | | | | | | | | |

LEGENDA:
- L. S. = Liquido sobrenadante
- Est. = Estaphylococco
- — = Negativo
- + a ++++ = Varias intensidades de lesões


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

589.95:614.521

# INFLUENCIA DOS ESTAPHYLOCOCCOS SOBRE A ACTIVIDADE DO VIRUS VACCINICO

POR

J. TRAVASSOS E R. GODINHO

---

O papel do estaphylococco na formação da pustula vaccinica tem sido objecto de numerosas pesquisas e discussões scientificas. Primitivamente responsabilizado pela etiologia do *cow-pox*, esse germe passou, sobretudo depois dos estudos sobre a filtrabilidade do virus, a ser encarado como elemento de infecção secundaria; depois, das pesquisas de Ponndorf (1) nasceu a idéa de uma symbiose, emprestando-se ao estaphylococco o papel principal de portador do virus, na localização ulterior deste nos tecidos; e, ainda recentemente, Rivière e Patocka (2), baseados em estudos realizados sobre o assumpto, estabeleceram a seguinte formula: "Les staphylocoques ayant une action plus rapide (même lorsqu'ils sont très peu pathogènes) determinent des lesions des cellules cutanées sur lesquelles se fixent alors les plus petites traces de virus, qui ne seraient pas elles-mêmes capables de determiner une reaction typique et intense".

Visando a interpretação de certos pontos deste problema, que, encarado na formula acima estabelecida por Rivière e Patocka, vem, em parte, de encontro ás verificações já feitas neste Instituto com o emprego do virus em estado de pureza (3), encetámos uma serie de experiencias, por signal grandemente facilitadas pelo uso do virus vaccinico puro (filtrado), material esse que, mais do que nenhum outro, offerece condições adequadas a essa ordem de pesquisas.

Na primeira parte do nosso trabalho, estudámos bacteriologicamente varios estaphylococcos isolados da polpa vaccinica, comparativamente com amostras de estaphylococcos pathogenicos e estaphylococcos isolados da pelle de pessoas sãs normaes; na segunda parte, procurámos verificar as possiveis relações existentes entre a cellula estaphylococcica e o virus vaccinico, no que diz respeito á formação da pustula vaccinica.

*Caracteristicos dos estaphylococcos isolados da polpa vaccinica e da pelle de pessoas normaes, estudados comparativamente aos de estaphylococcos pathogenicos.* — A differenciação dos estaphylococcos, baseada nos caracteres biologicos





ou no grau de pathogenicidade, é assumpto que demanda estudo acurado. Ainda não ha um methodo rigoroso baseado no qual se possam distribuir os varios estaphylococcos por grupos definidos; o conjuncto de caracteristicos que separa os estaphylococcos saprophytas dos pathogenicos apresenta numerosas excepções, nem sempre sendo possivel filial-os acertadamente. Não sendo aqui apropriada a discussão dessas falhas, limitamo-nos a assignalar os caracteristicos biologicos que approximam ou afastam entre si os estaphylococcos da polpa vaccinica e os pathogenicos para o homem, visando principalmente verificar a possivel pathogenicidade dos mesmos.

O pigmento côr de ouro, a liquefacção da gelatina, a reducção dos nitratos, a coagulação do leite, a acidificação de certos assucares, a producção de uma hemolysina e da estaphylocoagulase, são caracteristicos que se encontram quasi sempre nos estaphylococcos pathogenicos. Esses caracteristicos foram por nós estudados nas amostras de estaphylococcos que isolámos da polpa e da pelle de pessoas normaes, comparativamente com varias amostras de estaphylococcos pathogenicos para o homem, da nossa collecção de culturas.

O Quadro n.° 1 resume os resultados obtidos. Como se poderá ver, esses resultados foram mais constantes na pesquisa da estaphylocoagulase (prova de Much), positiva na serie de estaphylococcos pathogenicos e negativa na serie de saprophytas, mostrando os estaphylococcos isolados da polpa fraco poder coagulador do plasma. Com algumas dessas amostras procedémos á prova de pathogenicidade, para o que recorrémos á technica de Dold (4), por mais se approximar do fim que visavamos. As inoculações foram feitas em coelhos por via intradermica e na dose de 0,05 c. c. de uma cultura em caldo de 24 horas.

De uma maneira geral, a pathogenicidade para o coelho correu a par com a prova da estaphylocoagulase. Na cornea do coelho e cobaia, os resultados foram identicos.

Os estaphylococcos da polpa mostraram-se mais fortes reductores dos nitratos.

No que diz respeito ao comportamento dos meios assucarados, verifica-se que, por parte dos pathogenicos, ha uma certa regularidade no comportamento em maltose, glycose, saccharose, levulose e lactose que acidificam, e em raffinose, salicina e inulina que não atacam. Em mannita ha uma acidificação tardia e em glycerina e raffinose não ha regularidade na acidificação.

Os estaphylococcos isolados da polpa vaccinica são acidificadores de maior numero de assucares nos primeiros dias de incubação, mas segue-se logo a alcalinização em varios delles. A irregularidade é accentuada em maltose e lactose. Podem ser differenciados dos pathogenicos pela acidificação da raffinose e sobretudo da inulina, o que é mais constante.

Os estaphylococcos isolados da pelle de pessoas normaes são de fraco poder acidificador. A saccharose, bem como a mannita, só é atacada tardiamente.

Differenciam-se mais accentuadamente dos pathogenicos pelo comportamento em lactose, que a maioria das amostras não ataca.

Si não fossem as muitas excepções que apresentam, seria talvez possivel uma tentativa de seu agrupamento do seguinte modo:

*A — Pathogenicos* — Acidificam abundantemente, e já nas 24 horas, maltose, glycose, saccharose, levulose e lactose. A acção acidificadora é menos pronunciada em mannita e ainda mais em glycerina. Não têm acção sobre raffinose, salicina e inulina. São fortes productores de estaphylocoagulase, têm fraco poder reductor sobre os nitratos e frequentemente produzem uma hemolysina.

*B — Epidermidis* — Maus acidificadores. Atacam com mais regularidade maltose, glycose, levulose e, tardiamente, saccharose e mannita. Não têm acção sobre lactose, raffinose, salicina e inulina. Acidificam irregularmente a glycerina. Não coagulam o plasma e têm fraco poder reductor sobre os nitratos.

*C — Da polpa* — Acidificam, com certa regularidade, maltose, glycose, saccharose, levulose, lactose, inulina, raffinose e glycerina, mas terminam por alcalinizar os meios, sobretudo nos com maltose, raffinose e inulina. Agem irregularmente em mannita e acidificam ligeiramente salicina. São fracos productores de estaphylocoagulase e fortes reductores dos nitratos.

Do estudo que acabámos de fazer pode-se presumir, no limite do possivel, que: a) na pelle de pessoas normaes, commummente, não existem estaphylococcos com caracteristicos totalmente comparaveis aos dos pathogenicos; b) os estaphylococcos isolados da polpa vaccinica apresentam caracteristicos que os approximam mais dos pathogenicos do que dos estaphylococcos commummente encontrados na pelle.

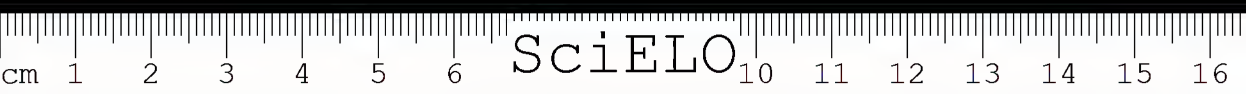
Qual o papel desses estaphylococcos da polpa na formação da pustula vaccinica?

Para o estudo desse problema tentámos varias experiencias, visando verificar o seu papel como vehiculadores do virus, para o que principiámos por indagar si os estaphylococcos isolados da polpa vaccinica contêm o virus.

*Experiencia I* — Uma alça de polpa vaccinica foi espalhada em placa de agar-sangue e collocada na estufa a 37°C, durante 18 horas. As colonias de estaphylococcos desenvolvidas eram então isoladas em tubos de agar e novamente incubadas por 18 horas. Emulsionou-se em salina e pesquisou-se a presença do virus por escarificação da cornea do olho de cobaia. Annotavam-se as lesões obtidas e, no fim de 20 dias, procedeu-se á prova de immunidade, usando-se o virus puro. Eis os resultados (Quadro n.° 2):

As lesões foram perfeitamente caracteristicas das infecções estaphylococcicas, porquanto nas provas ulteriores de immunidade da cornea ao virus observámos lesões typicas. Em identicas condições (permanencia na estufa por 36 horas) o virus puro e o da polpa revelaram-se activos para a cornea da cobaia.





Esta experiencia parece mostrar que o virus vaccinico não se cultiva na cellula estaphylococcica. Para corroborar estes resultados, fizemos algumas tentativas de cultivo *in vitro* do virus puro, tanto na cellula estaphylococcica, como na estreptococcica e pneumococcica, usando a technica de Degkwitz (5), sem termos logrado resultados positivos.

*Experiencia II* — As cellulas estaphylococcicas adsorvem o virus vaccinico?

Usámos para estas experiencias o virus puro n.° 4659, que, diluido a 1 °/oo, provocara opacificação completa da cornea da cobaia.

A uma parte de uma emulsão de estaphylococco (cultura de 18 doras) addicionámos uma parte do virus puro. Agitámos e deixámos em contacto durante 2 horas á temperatura de 10°C e á temperatura de 37°C. Centrifugámos, lavámos em salina 4 vezes e reconstituimos o volume primitivo. Realizámos essas experiencias, tanto com cellulas vivas, como com cellulas aquecidas a 65°C por uma hora. Empregámos estaphylococcos isolados da polpa vaccinica, saprophytas da pelle e um pathogenico. Tanto o liquido sobrenadante, como os estaphylococcos assim lavados, foram diluidos em salina a 1 % e a 1 °/oo e ensaiados na cornea da cobaia. Testemunhámos com animaes inoculados com estaphylococcos vivos e com o virus puro. Eis os resultados obtidos (Quadro n.° 3):

Tanto com cellulas vivas, como com cellulas mortas, pode-se verificar que os estaphylococcos adsorvem o virus, tal como se tem observado com outras substancias capazes de adsorver particulas colloidaes (carvão animal, caolim, hydroxido de aluminio, etc.). As lesões obtidas apresentaram os caracteres typicos das lesões devidas ao virus vaccinico, bem como provocaram immunidade ao virus.

Cumpre-nos agora accentuar que, para a resolução da questão em estudo, algumas observações já realizadas e outras por nós conduzidas nos trazem novas contribuições a saber:

a) A inoculação do virus puro (filtrado), por escarificação da pelle, tanto em animaes, como em crianças primo-vaccinadas, produz uma pustula typica, perfeitamente comparavel em seus principaes caracteristicos á pustula obtida nas mesmas condições com a polpa vaccinica, differindo, talvez, por um maior periodo de evolução e, certamente, por uma menor reacção inflammatoria (3).

b) Si de uma pustula provocada pela lympha vaccinica ordinaria e que apresente regular reacção inflammatoria colhermos o material da vesicula com todos os cuidados de asepsia externa e o semearmos em meios communs, obteremos culturas de estaphylococcos, o que não é possivel com o producto das pustulas produzidas pelo virus filtrado e nas de evolução normal obtidas pelas polpas pobres em germes. Uma dezena de verificações que realizámos permittiu-nos esta conclusão.

c) Além disso, o processo de cicatrização das pustulas vaccinicas, obtidas com o virus puro, evolve de maneira especial, deixando somente uma imperceptivel mancha com tendencia franca ao completo apagamento (3).

d) E, como si não bastassem esses factos principaes para demonstrar a localização do virus no tecido, independentemente da presença de estaphylococco que apresente pelo menos certos caracteristicos dos pathogenicos (os estaphylococcos da pelle de pessoas normaes não revelam os caracteristicos dos pathogenicos e são totalmente desprovidos de acção para o derma e a cornea de coelhos e cobaias), ainda, por varias vezes, obtivemos pustulas typicas em coelhos e em primo-vaccinados, por inoculação intra-dermica do virus puro em diluições diversas, tendo-se observado os maiores cuidados de asepsia externa e controlado todo o material usado. A semeadura posterior do liquido das vesiculas assim obtidas, colhido com todos os cuidados de asepsia, mostrou a sua completa esterilidade.

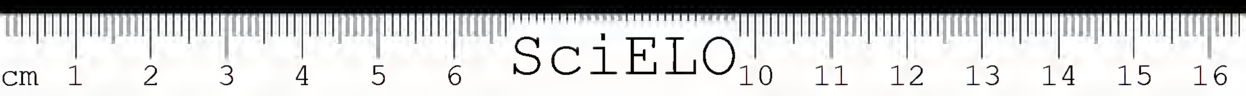
## DISCUSSÃO

Neste estudo partimos de um virus puro obtido por filtração segundo a technica usada neste Instituto, e dotado de grande actividade para a cornea da cobaia. Com esse material obtivemos pustulas vaccinicas typicas, tanto por via intradermica, como por escarificação do derma. O liquido das vesiculas colhido asepticamente e semeado nos meios communs de laboratorio não deixou desenvolver nenhum germe, o que tambem foi verificado em pustulas vaccinicas de evolução normal, obtidas á custa de polpa vaccinica (material com estaphylococco). No processo cicatricial das pustulas obtidas com o virus puro, notámos certas differenças que se traduziam por uma mancha imperceptivel com tendencia ao completo apagamento.

Na operação vaccinante procurámos evitar a inoculação do estaphylococco que, na opinião de varios auctores, é o elemento inicialmente necessario (Ponndorf), irritativo das cellulas dos tecidos, preparador do terreno para localização do virus, o qual, por si só, não seria capaz de determinar uma reacção typica e intensa (Rivière e Patocka). A par de não termos obtido culturas de estaphylococco do liquido das vesiculas, o que tambem aconteceu em pustula provocada por polpa vaccinica, verificámos preliminarmente que os estaphylococcos encontrados communmente na pelle de pessoas normaes não apresentam caracteristicos dos pathogenicos e, mesmo quando inoculados em quantidade consideravel na cornea da cobaia ou na pelle do coelho (inoculação intradermica), não são capazes de produzir lesão apparente. O contrario foi verificado com os estaphylococcos da polpa que por seus caracteristicos se approximam dos pathogenicos.

O problema é encarado tambem sob o ponto de vista das possiveis relações, na polpa vaccinica, do estaphylococco com o virus. Neste particular, verificámos que a cellula estaphylococcica, tanto viva, como morta (aquecida 65°C), tal como





acontece com o caolim ou carvão animal, é capaz de adsorver intimamente o virus vaccinico, mas parece que não ha reproducção do virus na cellula estaphylococcica.

E' provavel que o estaphylococco da polpa tenha algum papel inicial irritativo das cellulas, desviando talvez a defesa organica e facilitando a localização do virus. Esse facto talvez explique o apparecimento algo tardio da pustula provocada pelo virus puro. Longe, porém, está tudo isso da affirmativa de Rivière e Patocka, de que o virus, por si só, não seria capaz de determinar uma reacção typica e intensa. As lesões vaccinicas, obtidas neste Instituto, quer em animaes e por differentes vias, quer no homem, demonstram farta e claramente que é possivel obter lesões seguramente typicas e intensas por meio do virus puro, na ausencia do estaphylococco da polpa.

## CONCLUSÕES

Os estaphylococcos da polpa não têm nenhum papel indispensavel na formação da pustula vaccinica, sendo, entretanto, provavel que exerçam certa irritação sobre as cellulas do tecido, facilitando talvez a localização do virus.

## ABSTRACT

The staphylococci found in the vaccine lymph does not play any indispensable rôle in the formation of the vaccine pustule although they are likely to exert a certain irritation on the derma cells so as to facilitate the localization of the virus.

---

## BIBLIOGRAPHIA

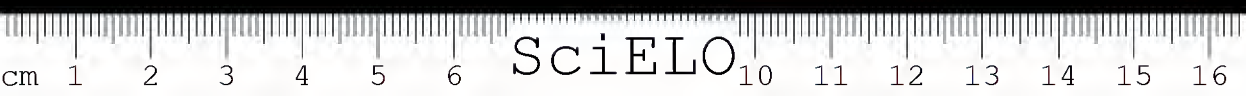
1. *Ponndorf* — Rev. Intern. Vaccin. IV:114.1913.
2. *Rivière, R. D. & Patocka, F.* — C. R. Soc. Biol. CIV:367.1930.
3. *Monteiro, J. Lemos & Godinho, R.* — Mem. Inst. Butantan V:1.1930.
4. *Dold, H.* — Centralbl. f. Bakt. Originale C11:1.1931.
5. *Degkwitz, R.* — J. Inf. Dis. XLI:304.1927.

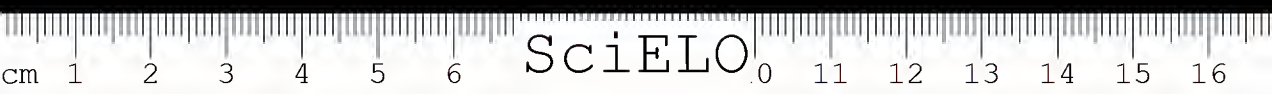
(Trabalho das Secções de Virus e de Immunologia do Instituto Butantan, terminado em julho de 1932).

# POSSIBILIDADE DE CONTAMINAÇÃO DA LYMPHA VACCINICA PELO VIRUS DA FEBRE APHTOSA

POR

S. DE CAMARGO CALAZANS E R. GODINHO




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

589.93:614.56:614.521

# POSSIBILIDADE DE CONTAMINAÇÃO DA LYMPHA VACCINICA PELO VIRUS DA FEBRE APHTOSA

POR

S. DE CAMARGO CALAZANS E R. GODINHO

Apesar de rara, por mais de uma vez tem sido verificada a associação do virus aphtoso ao virus vaccinico ou do "cow-pox".

Nada, porém, devemos estranhar neste facto, si considerarmos que a essas duas infecções são extremamente sensiveis certos animaes como os bovinos, empregados por quasi todos os institutos para a producção da vaccina animal.

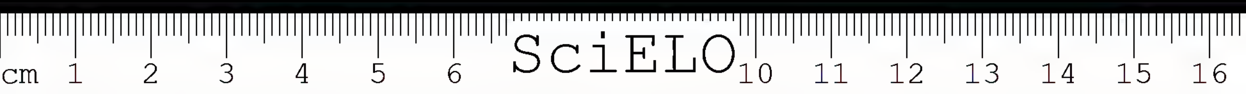
Todos aquelles que lidam de perto com o problema do preparo da vaccina antivariolica devem estar alertas contra o perigo do virus da febre aphtosa, molestia tão commum entre os nossos rebanhos e da qual podem vir contaminados os vitellos destinados á vaccinação.

O exame cuidadoso a que é submettido o animal antes de ser considerado apto para soffrer a inoculação do virus vaccinico não se satisfaz simplesmente com a inspecção clinica feita na cavidade buccal e nos cascos do animal, partes de predilecção para surto das ulcerações que precedem e acompanham as outras manifestações da aphtosa.

Sempre após a colheita da polpa deve ser o animal sacrificado e cuidadosamente necropsiado, para que possa ter logar o exame mais completo de qualquer lesão de enfermidades, entre as quaes sobrepujam a tuberculose e a aphtosa, cuja presença condemna o uso da polpa vaccinica delle oriunda. Este é o methodo correntemente adoptado pelo Laboratorio Vaccinico do Butantan e em voga nos institutos vaccinicos mais acreditados.

Na literatura medica são citados alguns casos em que a associação dos dois virus ficou perfeitamente comprovada, com dados experimentaes. Não se conhece, porém, até a presente data, apesar dos ataques innumeros soffridos pela vaccina em toda a parte, um caso siquer de febre aphtosa transmittida ao homem pela vaccina variolica, em mais de um seculo de larga applicação desta incomparavel medida de prophylaxia. Sabe-se, no entanto, como o demonstrou Trautwein ultimamente, que é possivel a contaminação humana, mesmo através da pelle: tratava-se, no caso relatado por este pesquisador, de um homem sadio, que trabalhava





na Secção de Aphtosa do Instituto de Pesquisas da ilha de Riems e que se ferira com um estylete vaccinico no dedo indicador, quando auxiliava a inoculação experimental da aphtosa em um bovino. Sendo pequeno e superficial o ferimento pouca importancia lhe foi dada. Tres dias depois manifestou-se uma pequena pustula no logar do ferimento, evolvendo em seguida a aphtosa typica com lesões generalizadas, excepção feita das lesões da bocca e da elevação thermica. Inoculações em cobaias e leitões com o liquido crystallino, retirado de vesiculas de uma das mãos, produziu, na maioria dos animaes, lesões caracteristicas da aphtosa.

O mesmo auctor conseguiu ainda, do ponto de vista da immunidade e da pluralidade do virus aphtoso, obervar os mesmos phenomenos verificados na febre aphtosa dos animaes.

O tempo de incubação neste caso foi de 2 dias, tendo a molestia evolvido em 15 dias.

Outros auctores conseguiram tambem verificar a possibilidade da transmissão da aphtosa ao homem.

Pancera, em 1922, demonstrou que a inoculação do material retirado de casos humanos de *stomatitis vesicularis*, apparecidos na provincia de Como, ao mesmo tempo que grassava a aphtosa entre os animaes, determinava o desenvolvimento de lesões typicas desta doença em cobaias e vitellos.

Gerlach, em 1924, referiu um caso de aphtosa humana, no qual a infecção teve origem pela ingestão de uma manteiga contaminada pelo virus, caso este tambem confirmado pela inoculação em cobaias.

No nosso presente trabalho não foi possivel estabelecer uma supposta associação dos virus, pois as provas, feitas em grande numero de cobaias, foram sempre negativas.

## CASOS DE PELOTAS

Pouco tempo antes de occorrer o surto epizootico da febre aphtosa em animaes bovinos pertencentes ao Instituto de Hygiene de Pelotas, foram pedidas, em agosto de 1929, novas sementes de virus vaccinico aos Institutos Oswaldo Cruz e Butantan. As sementes então existentes no Instituto de Pelotas achavam-se fracas, não tendo sido possivel exaltal-as, apesar de 11 passagens em coelhos. Recebidas as sementes dos Institutos acima referidos, foi vaccinada, em setembro, uma terneira com a semente n.º 55, proveniente do Instituto Oswaldo Cruz, por ser de preparo mais recente.

A producção foi pequena e negativa a passagem em coelhos. Possivelmente a elevada temperatura a que foi submettida durante os dias de transporte do Rio a Pelotas teria diminuido sua virulencia.

Em outubro foi vaccinada a terneira n.º 13, utilizando-se então a semente n.º 4.590 do Instituto Butantan. A não ser no que se refere á temperatura, que

foi mais elevada do que a costumada, a vaccina evolveu normalmente, dando o animal uma regular producção de polpa bruta.

Infelizmente, logo após a colheita da vaccina, verificou-se que, na terneira vaccinada, se manifestara a febre aphtosa com suas lesões caracteristicas.

Diante do apparecimento deste caso de aphtosa, foi suspenso o serviço de preparo de vaccina variolica e tomadas as providencias aconselhadas para evitar a disseminação do mal, não só aos bovinos, de alto custo, importados e submettidos á premunição contra a "tristeza", mas, ainda, a outros animaes pertencentes ao Instituto.

A terneira atacada pela aphtosa foi sacrificada immediatamente e desinfectados o local e todos os utensilios que com ella entraram em contacto com uma solução de soda a 2 %.

Apesar das medidas rigorosas tomadas logo que se verificou o primeiro caso do mal, não foi possivel evitar a contaminação dos bovinos importados e alojados, por falta de installações adequadas, na cocheira destinada aos cavallos productores de soros e situada a poucos metros de distancia do local onde se achava a terneira vaccinada.

Tratando-se de uma molestia de alto poder contagiante como a aphtosa, e dispondo o Instituto apenas de dois tratadores de animaes, tornou-se impossivel evitar a disseminação.

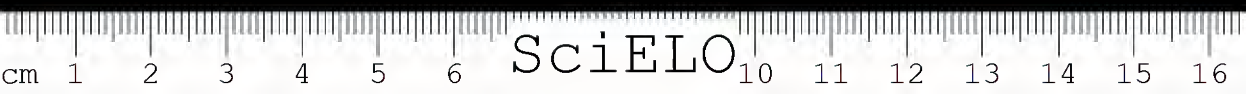
Comtudo, graças ao estabelecimento de rigoroso cordão sanitario, prohibição de visitas ás cocheiras e uso de calçado e roupas especiaes para todos os funccionarios que trabalhavam na secção de Veterinaria, foi evitada a propagação da epizootia pelo interior do Municipio, tendo a aphtosa surgido e desapparecido no proprio Instituto.

Não foi possivel estabelecer claramente a origem da epizootia. A terneira na qual a molestia se apresentou em primeiro logar já se achava no Instituto ha mais de um mês e o periodo de incubação da aphtosa é, no maximo, de 21 dias. Alem disso, o animal procedia de um campo contiguo ao Instituto, onde não havia e nem posteriormente se observou a referida molestia. Dotado, porém, de grande resistencia, podia o virus aphtoso ter sido transportado ao Instituto, pela alfafa, por um animal trazido á consulta, pelo proprio veterinario ou ainda podia estar associado ao virus vaccinico.

Sabe-se pelos trabalhos de Mohler e Rosenau e de outros pesquisadores que é possivel esta associação do virus aphtoso ao vaccinico, conservando-se ambos por longo tempo virulentos, quando mantidos a baixa temperatura, e dahi o ter um de nós formulado a hypothese de poder a semente n.º 4.590, procedente de Butantan, ter sido a causa da epizootia.

Não foi, porém, feita verificação alguma no sentido de se apurar a veracidade de tal hypothese, pois era necessario eliminar a aphtosa o mais rapidamente possivel do Instituto.





Erradicada a aphtosa, iniciou-se novamente a producção da vaccina jenneriana em janeiro de 1930.

Apesar de fraca, foi utilizada, em falta de outra, a semente n.° 55, procedente de Manguinhos, vaccinando-se com ella duas terneiras, que produziram pequena quantidade de polpa.

Feitas as provas de virulencia da vaccina em pessoas não vaccinadas, obtivemos resultados negativos.

Recebida de Butantan a 2.ª semente (n.° 4623) a 4 de março de 1930, foi no dia seguinte por um de nós vaccinada a terneira n.° 18.

Evolução normal, vesiculas de bom aspecto, rendendo a polpa 40 grammas. Dias depois, quando a terneira já estava solta, tivemos aviso que o referido animal se achava com aphtosa.

Informada a Directoria do Instituto Butantan de taes factos, immediatamente teve o Instituto de Pelotas conhecimento, por meio de resposta telegraphica, de que as vaccinas nos. 4590 e 4623, segundo os exames aqui praticados, estavam bastante puras e haviam sido empregadas na população com bom resultado.

Attribuimos o novo apparecimento desta molestia á possivel existencia de portadores de virus entre os bovinos que se achavam no potreiro e que haviam sido atacados pelo mal algum tempo antes, por occasião da epizootia de outubro.

Seria uma grande coincidencia que duas sementes, uma n.° 4590 (colhida a 16-X-1928) e a outra n.° 4623 (colhida a 21-VIII-1929), ambas procedentes do mesmo Instituto, cuja reputação se acha acima de qualquer suspeita, viessem a apresentar a mesma contaminação, aliás não comprovada, como demonstraremos no presente trabalho.

Assim pensando e para ganhar tempo e poder deixar um regular stock de vaccina no Instituto, de cuja direcção um de nós pretendia afastar-se, definitivamente, no fim de março, vaccinaram-se varias praças do Exercito Nacional pertencentes ao 9.° R. I. entre as quaes algumas iam ser inoculadas com a lympha vaccinica pela primeira vez. Nestas ultimas a vaccina pegou na proporção de cento por cento, com evolução bem normal, não tendo as pessoas vaccinadas apresentado o mais leve signal da febre aphtosa. Em todo caso, com o proposito de se verificar si a semente n.° 4623, que servira para vaccinar o animal n.° 18, se achava contaminada com o virus da aphtosa, foi inoculada, sob os cuidados necessarios, a 21 de março, a terneira n.° 19. Infelizmente, manifestou-se tambem neste animal a febre aphtosa.

Apesar de não ser provavel que o virus da aphtosa estivesse associado á semente empregada, foi retirado material dos individuos vaccinados com a vaccina da terneira n.° 18, sendo inutilizada a vaccina extrahida da mesma.

O material retirado das pessoas vaccinadas e parte da polpa suspeita deveriam ser examinados, juntamente com a semente n.° 4623, no Instituto Butantan.

Tendo-se perdido no frigorifico de bordo o material destinado a exame no Butantan, ficaram um tanto prejudicadas as nossas experiencias, pois algumas faces interessantes do problema, como a verificação da presença do virus da aphtosa na lympha retirada das pustulas dos individuos vaccinados com a vaccina da terneira n.º 18 e ainda na propria polpa vaccinica da mesma terneira, não puderam ser levadas adiante.

*Verificação no Butantan* — Uma das polpas suspeitas, utilizada como semente, em Pelotas, a de n.º 4590, procedente da partida n.º 4541, por sua vez originaria de uma semente vinda de coelho, não mais existia no stock do Laboratorio Vaccinico, ao ter a Secção conhecimento da occorrencia de Pelotas.

Empregada como semente, havia sido totalmente aproveitada na obtenção das seguintes partidas: Nos. 4610, 4611, 4612, 4613, 4614, 4615, 4616, 5617, 4619, 4620, 4622, 4623 e 4629. De accordo com o respectivo registo da Secção, tiveram todas ellas evolução normal e typica, com bom aproveitamento, não accusando nenhuma anormalidade os resultados das necropsias dos vitellos, feitas no Matadouro Municipal de S. Paulo, conforme os boletins recebidos e archivados.

Procurando o Instituto exercer especial controle sobre os resultados das vaccinações e revaccinações feitas pelo Serviço Sanitario de S. Paulo com lympha variolica das differentes partidas originarias dessa semente (4590), verificou, até o momento presente, pelas cuidadosas observações que são periodicamente enviadas pela Inspectoria de Molestias Infecciosas, que num total de 246 pessoas inoculadas não houve um só caso de qualquer manifestação clinica que despertasse a suspeita de associação dos dois virus.

*Polpa n.º* 4623 — Como acima ficou assignalado, esta partida é originada tambem da semente n.º 4590 e foi colhida em 26-VIII-1929, após normal evolução, produzindo 152,0 grs. de polpa bruta num vitello que pesava 112 kilos. Della foram retiradas 20,0 grs. para seccar e 10,0 grs. para experiencias de filtração do virus vaccinico sendo, posteriormente, enviados 60 c. c. ao Instituto de Hygiene de Pelotas (pedido telegraphico do Dr. Calazans, de 2-11-1930), depois do que foi recebida communicação de que naquelle Instituto sobreviera febre aphtosa no vitello vaccinado com tal semente, em repetição do que succedera entre os vaccinados com a de n.º 4590.

Logo a seguir, foi empregada aqui essa mesma semente n.º 4623 na vaccinação do vitello n.º 3 de 1930, pesando 136 kilos, e que produziu, depois de desenvolvimento normal, 246,0 grs. de polpa, o mesmo succedendo com relação ao vitello n.º 9, vaccinado em 2-IV-1930, com 139 kilos, fornecendo 108,0 grs. de polpa bruta. Ambos foram cuidadosamente examinados neste Instituto, sem que nada apresentassem de anormal, segundo os respectivos protocollos das necropsias.

No intuito de bem esclarecer a suspeita de contaminação da polpa, apesar das duas primeiras observações negativas, foi iniciada uma serie de provas outras.

uma vez que dispunha ainda o Laboratorio de quasi toda a quantidade inicial da alludida polpa.

*Novas provas em vitellos, cobaias e coelhos* — Escolhidos dois vitellos aqui nascidos e jamais afastados das suas pastagens, ao abrigo de qualquer suspeita de anterior infecção por aphtosa, depois de rigorosamente inspeccionados pela Secção de Medicina Veterinaria do Instituto, foram respectivamente identificados sob os nos. 27 e 28 do livro de registo do Laboratorio Vaccinico. O primeiro foi inoculado no dia 9-VII-1930 e na mesma occasião injectados varias cobaias e alguns coelhos. A evolução da vaccina nesse vitello foi perfeitamente normal, produzindo 136,0 grs. de polpa. Entretanto, como um dos animaes, no 6.° dia depois da vaccinação, apresentasse, nas gengivas e nos cascos posteriores, ligeiras ulcerações, que podiam ser attribuidas á occasional natureza do capim secco com que estava sendo alimentado, foi feito o transplante do producto da raspagem das referidas ulcerações, não só para outro vitello, o de n.° 28 e que era na mesma occasião inoculado com a semente n.° 4623, como ainda para uma serie de cobaias e alguns coelhos que receberam tambem por inoculação e escarificação a saliva do mencionado vitello. Segundo verificámos mais tarde, em outros casos, essas ulcerações provêm de auto-inoculação da vaccina acarretada pela lingua dos vitellos no acto de estes lamberem a região escarificada.

No 4.° dia de evolução da vaccina no vitello n.° 28, foi elle sangrado e o sangue, tanto citratado, como desfibrinado, e ainda o respectivo soro fresco inoculados em differentes regiões e por diferentes vias em outra serie de cobaias, experiencia esta de que se incumbiu o assistente do Instituto, dr. Cicero Neiva.

Todos os resultados experimentaes confirmaram a ausencia de qualquer contaminação da polpa por virus aphtoso.

Finalmente, mais duas provas foram ainda realizadas em vitellos de tenra idade, recebidos pelo Instituto do vizinho Municipio de Santo Amaro. Estes dois animaes, cuidadosamente inspeccionados durante cerca de 30 dias, não revelaram o mais leve indicio de anterior contaminação por aphtosa e, inoculados com a semente n.° 4623, o primeiro em 25-IX-1930 e o outro em 3-X-1930, tiveram ambos perfeita e normal evolução das pustulas, que foram colhidas e aproveitadas; submettidos a especial observação posterior, nada revelaram em favor da hypothese de uma infecção pelo virus aphtoso, o que a necropsia confirmou plenamente.

## DISCUSSÃO

Das observações e experiencias que acima estão relatadas dois problemas suscitam acurada investigação:

1.°) Haveria uma dualidade de virus nas duas polpas nos. 4590 e 4623, em grau de actividade capaz de reproduzir, nos bovinos em Pelotas, a vaccina e a febre aphtosa concomitantemente?

2.º) A febre aphtosa manifestada nos bovinos do Instituto sul-riograndense teria sido originada da existencia de portadores de virus ou pelo transporte deste ao Instituto pelos alimentos ou por outros meios possiveis?

E' facto fóra de qualquer duvida que numa mesma polpa vaccinica possam coexistir os dois virus, vaccinico e aphtoso, sem que uma longa permanencia em baixa temperatura exerça sobre qualquer delles influencia nociva. Além dos trabalhos de Mohler e Rosenau e das experiencias de M. Belin sobre a conservação e exaltação da virulencia do virus aphtoso, por culturas simultaneas com o virus vaccinico, um estudo completo sobre o assumpto vem publicado nos Annaes do Instituto Pasteur, por Hellsbergen, provando que os dois virus, mantidos em baixa temperatura, guardam integralmente as suas propriedades especiaes. Ora, si o complexo vaccinico-aphtoso existia nas polpas sementes nos. 4590 e 4623 e em condições de determinar a manifestação da aphtosa em Pelotas, não deveria este ter falhado aqui, por terem sido as polpas tantas vezes empregadas em bovinos de varias procedencias, sempre mantidas em optimas condições de conservação.

Igualmente falhou a inoculação nos demais animaes experimentados, não obstante ser a cobaia muito sensivel á infecção. Não ha razão, pois, para se concluir pela primeira hypothese aventada que, assim eliminada, deixaria de pé a segunda: introducção fortuita da infecção por meio de portadores de virus, alimentos, ou outros meios de identica natureza.

## RESUMO

E' possivel a subsistencia do complexo vaccinico-aphtoso numa polpa vaccinica.

Das verificações procedidas em relação ás polpas nos. 4590 e 4623 do Instituto Butantan, ficou demonstrada a inexistencia nellas de tal complexo, sendo afastada a sua responsabilidade na occorrencia dos casos de febre aphtosa observados no Instituto de Hygiene de Pelotas entre outubro de 1929 e março de 1930.

## ABSTRACT

Vaccine lymph may harbour the combination of the viruses of vaccinia and foot-and-mouth-disease under favourable circumstances. However, an experimental study made of two batches (No. 4590 and No. 4623) of vaccine lymph as prepared at the Instituto Butantan proved this combination not to be responsible for the appearance of cases of foot-and-mouth-disease among the calves inculated with them at the Pelotas Instituto de Hygiene between October 1929 and March 1930.

## Quadro I

**Fichas das sementes n°s. 4590 e 4623.**

| N.° do vitello Anno | Peso (ks.) | Data da vaccinação | Semente empregada | Evolução da vaccina no vitello | Quantidade obtida Data | Necropsia do vitello Resultado | N.° da partida. Observ. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 76 1928 | 140 | 11-X-1928 | 4561 | Normal | 175,0 grs. 16-X-1928 | Negativo | 4590 (semente) |
| 30 1929 | 112 | 16-VIII-1929 | 4590 | Normal | 152,0 grs. 21-VIII-1929 | Negativo | 4623 (semente) |

## Quadro II

**Resumo das experiencias realizadas no Instituto Butantan.**

Inoculação da polpa-semente n.° 4623 em vitellos.

| N.° do vitello | Peso (ks.) | Data da vaccinação | Semente empregada | Evolução da vaccina no vitello | Quantidade obtida Data | Necropsia do vitello Resultado | N.° da partida. Observ. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 136 | 6-III-1930 | 4623 | Normal | 246,0 grs. 11-III-1930 | Negativo | 4644 (semente) |
| 9 | 139 | 2-IV-1930 | 4623 | Normal | 108,0 grs. 7-IV-1930 | Negativo | 4650 |
| 27 | 189 | 9-VII-1930 | 4623 | Normal | 136,0 grs. 14-VII-1930 | Negativo | 4668 *(a) |
| 28 | 139 | 21-VII-1930 | 4623 | Normal | 120,0 grs. 26-VII-1930 | Negativo | 4669 *(b) |
| 34 | 156 | 25-IX-1930 | 4623 | Normal | 90,0 grs. 30-IX-1930 | Negativo | 4675 |
| 40 | 90 | 3-X-1930 | 4623 | Normal | 70,0 grs. 8-X-1930 | Negativo | 4681 |

*(a) A saliva, o producto da raspagem das ulcerações da bocca e do casco deste vitello e a polpa-semente n.° 4623 foram inoculados em 12 cobaias e em 4 coelhos, apresentando resultado negativo (Quadro n.° III).

*(b) Este vitello foi sangrado no 4.° dia depois da inoculação. Tanto o sôro fresco como o sangue citratado e desfibrinado foram inoculados, por differentes vias, em 18 cobaias, pelo dr. Cicero Neiva, que nada observou de positivo (Quadro n.° IV).

QUADRO III

1.ª serie de experiencias em cobaias e coelhos.

| Data | N.º da cobaia | Material usado | Meio de inoculação | Resultados e observações |
|---|---|---|---|---|
| 18-VII-1930 | 39 | Saliva do vitello N.º 27 (a) | Pata posterior esquerda. Pata anterior direita. | Negativo |
| " | 209 | " | " | " |
| " | 26 | " | " | " |
| " | 42 | Material colhido da ulceração das gengivas do vitello n.º 27 (b) | " | " |
| " | 89 | " | " | " |
| " | 162 | " | " | " |
| " | 53 | Material colhido da ulceração do casco do vitello n.º 27 (c) | " | " |
| " | 44 | " | " | " |
| " | 99 | " | " | " |
| " | 51 | Polpa-semente n.º 4623 (d) | " | " |
| " | 7 | " | " | " |
| " | 19 | " | " | " |

COELHOS

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| " | 85 | Material (a) | Pata posterior esq. Pata anterior direita | " |
| " | 132 | Material (b) | " | " |
| " | 12 | Material (c) | " | " |
| " | 14 | Material (d) | " | " |

## Quadro IV

2.ª serie de experiencias em cobaias.

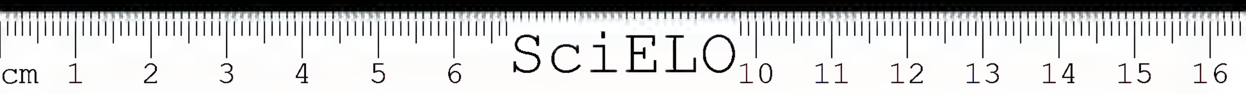
| Data | N.º da cobaia | Material usado | Meio de inoculação empregado | Resultados e observações |
|---|---|---|---|---|
| 25-VII-1930 | 55 | Sangue citratado do vitello n.º 28. Colheita no 4.º dia. | 0,2 cc. intra-dermica | Negativo |
| " | 88 | " | 0,3 cc. intra-peritoneal | " |
| " | 54 | " | 0,1 cc. intra-cutanea | " |
| " | 1 | " | Escarificação nas patas e gengivas | " |
| " | 2 | " | " | " |
| " | 3 | " | " | " |
| " | 6 | Sangue desfibrinado do vitello n.º 28. Colheita no 4.º dia. | 0,2 cc. intra-dermica | " |
| " | 78 | " | 0,3 cc. intra-peritoneal | " |
| " | 87 | " | 0,1 cc. intra-cutanea | " |
| " | 4 | " | Escarificação nas patas e gengivas | " |
| " | 5 | " | " | " |
| " | 6 | " | " | " |
| " | 23 | Sôro fresco do vitello n.º 28. Colheita no 4.º dia. | 0,2 cc. intra-dermica | " |
| " | 101 | " | 0,3 cc. intra-peritoneal | " |
| " | 170 | " | 0,1 cc. intra-cutanea | " |
| " | 7 | " | Escarificação nas patas e gengivas | " |
| " | 8 | " | " | " |
| " | 9 | " | " | " |

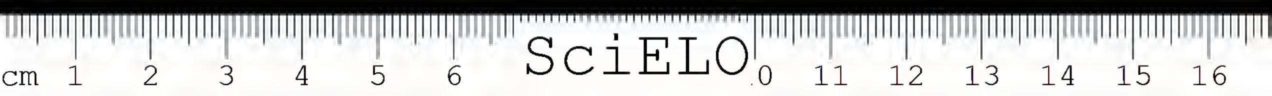
## BIBLIOGRAPHIA

1. *Mohler & Rosenau* — Contamination of vaccine virus by the virus of Foot — and Mouth Disease — U. S. Dept. of Agriculture, B. A. I. Circular (147) June 16, 1909.
2. *Belin, M.* — Conservation et exaltation de la virulence du virus aphteux par cultures simultanées avec le virus vaccinal — C.R.Soc. Biol. XCIV:816.1926.
3. *Trautwein, Karl* — Die Maul — und Klauenseuche — Infektion beim Menschen Dermatolog. Ztschr. LVII.1929.
4. *Panccra* — Casi di afta trasmessa de bovini all'uomo e comportamento del virus riportato in animali sensibili — La Clinica Veterinaria XLV:251.1922.
5 *Gerlach, F.* — Afta epizootica nell'uomo e transmissione sperimentale della malattia alla cavia — Clin. Vet., Milano XLVII:152.1924.
6. *Hellsbergen, T. van* — Contamination d'une lymphe vaccinale par le virus de la fièvre aphteuse — Ann. Inst. Pasteur XLVI(5):558.1931.
7 *Calazans, S. C.* — Relatorio apresentado ao Secretario do Interior e Exterior do Estado do Rio Grande do Sul em 2 de abril de 1930.
8. *Belin, M.* — Des caractères de l'évolution vaccino-aphteuse chez le cobaye — C. R. Soc. Biol. XCIV:387.1926.
9. *Rosenau, M. J.* — Preventive Medicine and Hygiene. :24.1920.
10. *Olitsky, P. K., Traum, J. & Shoening, H. V.* — Report of the Foot — and Mouth Disease Commission of the United States Department of Agriculture. Technical Bull. United States Department of Agr. Washington, D. C. (76):3.1928.
11. *Hutyra, Fr. & Marek, J.* — Patologia speciale e terapia degli animale domestici. Vol. 1:390.

(Trabalho iniciado no Instituto de Hygiene "Borges de Medeiros", de Pelotas, terminado na Secção de Virus e Virustherapia do Instituto Butantan e apresentado á Semana do Laboratorio, Soc. Med. Cir. S. Paulo, em Janeiro de 1932).






cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

# EMPREGO DO ACIDO ROSOLICO
# NO ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS BACILLOS DO GRUPO COLI-TYPHICO-DYSENTERICO EM MEIOS SOLIDOS

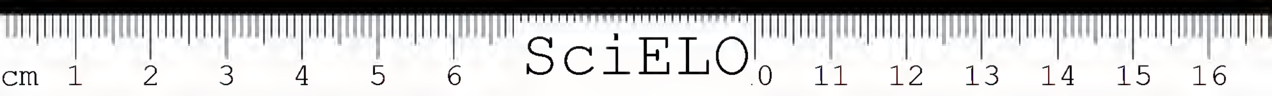
POR

S. DE CAMARGO CALAZANS E B. RANGEL PESTANA

---

*(com 2 trichromias no texto)*

---


SciELO

589.95: meio de cultura

# EMPREGO DO ACIDO ROSOLICO NO ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS BACILLOS DO GRUPO COLI-TYPHICO-DYSENTERICO EM MEIOS SOLIDOS

POR

S. DE CAMARGO CALAZANS E B. RANGEL PESTANA

## INTRODUCÇÃO

Constitue objecto de frequentes pesquisas dos bacteriologistas o estudo do grande grupo de bacterias a que se deu o nome de coli-typhico-dysenterico. Motivou esse agrupamento o facto de apresentarem taes germes semelhanças biologicas e morphologicas que difficultam sua differenciação, donde o apparecimento de varios methodos especiaes destinados a caracterizal-os, o que bem demonstra não se ter encontrado ainda um que sobrepujasse francamente os demais.

Entre os diversos methodos que temos para a differenciação destas bacterias, aquelles baseados na acção impediente exercida por varios corantes, ou então, ainda, nas propriedades biochimicas dos germes em relação a diversos hydratos de carbono e alcooes, são de pratica corrente em bacteriologia. Tanto as substancias inhibidoras, como as indicadoras da modificação da reacção dos meios de cultura usados, apresentam, contudo, certos inconvenientes, resultantes, quer da sua instabilidade, quer das grandes variações apresentadas pelas differentes partidas dos mesmos productos, que são, via de regra, substancias de constituição chimica muito complexa, e, nem sempre, perfeitamente estabelecida.

Resulta dahi a necessidade de se examinar a acção inhibidora de cada partida de alguns desses productos, antes de serem utilizadas, como adiante veremos.

Poucos são os corantes que, addicionados aos meios de cultura, gozam da propriedade de serem ao mesmo tempo indicadores e inhibidores, facto este que representaria, sem duvida, uma grande vantagem, não só para a efficiencia do methodo, como ainda do ponto de vista economico.

Entre os meios mais em voga para se isolar os germes do grupo coli-typhico, e que se baseou em taes propriedades de algumas substancias corantes, temos o de Drigalski-Conradi (1) em cuja composição entra o *litmus* como *indicador* e o *crystal violeta* como *seleccionador*. Apresenta este meio o inconveniente de ser de difficil preparo, exigindo, como acabamos de ver, a addição do litmus, substancia de composição chimica não exactamente estabelecida e, além disso, sensivel á acção reductora de muitos germes e outras substancias organicas que a privam do seu oxygenio, descorando-a. Apresenta ainda o grande inconveniente de serem pouco accentuadas as suas mudanças de côr nas vizinhanças da neutralidade (22). Neste meio o crystal violeta é empregado para impedir o crescimento de varios coccos e bacillos, deixando crescer os germes do grupo coli-typhico. Esta acção impediente, porém, faz-se sentir, muitas vezes sobre os *bacillos dysentericos*, motivo pelo qual o meio não é aconselhado para o isolamento desses germes.

Churchmann (2) e Churchmann e Michael (3) fizeram numerosas pesquisas a respeito do poder impediente do crystal violeta, demonstrando que, mesmo em grandes diluições (1/100.000), este corante impedia, com raras excepções, o crescimento dos germes Gram-positivos, ao passo que deixava crescer livremente os Gram-negativos. Estas pesquisas foram confirmadas por Krumwiede e Pratt (4), os quaes demonstraram ainda que tal acção inhibidora não se fazia sentir sobre os pneumococcos e estreptococcos, quando as diluições do corante já actuavam sobre outros germes Gram-positivos. Hall e Tabor (5) verificaram contudo que a regra estabelecida por Churchmann (2) em 1912, não era perfeitamente exacta quando se tratava de alguns anaerobios Gram-positivos. Foi assim que, experimentando com 2 raças de *C. tetani*, 1 de *C. welchii* e 1 de *C. sporogenes*, verificaram que as duas primeiras não cresceram, ao passo que as duas ultimas cresceram.

Verificámos, como veremos mais adiante, no presente trabalho, que os estaphylococcos e os estreptococcos tambem crescem quando cultivados no meio de Drigalski-Conradi, confirmando, pois, no que se refere ao estreptococco as pesquisas de outros auctores.

Outro meio de uso frequente entre os bacteriologistas e destinado ao isolamento dos germes do mesmo grupo, é o de Endo (6) em cuja composição entra a fuchsina descorada pelo sulfito de sodio. Sua reacção, quando o meio é preparado de accordo com a technica original, pode ser muito alcalina, attingindo ao pH 8.6, que o torna prejudicial á pesquisa dos bacillos dysentericos (7). Deste meio ha varias modificações tendentes a corrigir os defeitos que o mesmo apresenta e a simplificar a tecnica do seu preparo. Entre ellas temos a de Kendall e Day (8) e a de Robinson e Rettger (9) que, contudo, não trouxeram grandes vantagens para o processo.

No meio de azul de methyleno-eosina-agar, de Halt-Harris e Teague (10) as colonias dos bacillos do grupo typhico-dysenterico são transparentes e as do b. coli escuras. E' este um dos melhores meios até agora empregados.

Max Levine (11) em trabalho publicado em 1920, verificou, porém, ser este meio accentuadamente inhibidor para o bacillo Shiga.

Além disso ha entre nós ainda a difficuldade em se obter no commercio a eosina amarella necessaria para confecção deste meio.

Krumwiede e Pratt (12), em 1914, prepararam tambem um meio no qual ao agar era addicionado o verde brilhante (impedidor), como já o havia feito Conradi (13); ambos, porém, apresentavam o inconveniente de não conter um *indicador* que separasse os germes fermentadores da lactose daquelles que não a fermentavam. Mais tarde, Krumwiede, Pratt e McWilliams (14) accrescentaram a esse meio o *indicador Andrade*, facilitando deste modo o isolamento dos bacillos typhicos e paratyphicos. O grande inconveniente apresentado por este meio é que a quantidade de verde brilhante, a ser addicionada, varia com cada partida de agar preparada.

Por esse motivo, Park (15), recommenda preparar-se grandes quantidades de agar de cada vez, para diminuir o trabalho da padronização. E' necessario ainda empregar-se duas proporções differentes do corante; uma mais forte, outra mais fraca, porque o poder selectivo do verde brilhante varia de accordo com o material semeado e a composição do meio.

Este corante não impede somente o crescimento dos germes Gram-positivos, mas ainda o de muitos Gram-negativos, como o b. coli e dysenterico, deixando, porém, crescer os typhicos e paratyphicos.

O pH dos meios em que entra o verde brilhante deve ir de 6.4 ou mesmo de 6.2 a 7 como affirma Kliger (16), porque, com o pH 7.8 difficilmente serão encontrados os b. typhicos existentes em fezes de portadores.

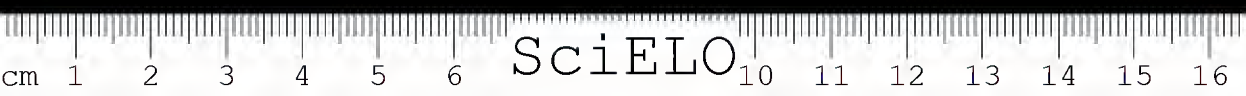
## EMPREGO DO ACIDO-ROSOLICO EM MEIOS CULTURAES

O acido rosolico foi tambem empregado nos meios destinados ao isolamento dos germes do grupo coli-typhico. Mandelbaum (17) em 1909 descreveu dois meios novos para o isolamento e differenciação destes germes, baseado, como se fazia com os meios de Drigalski-Conradi e de Endo, e outros, na acção de certas bacterias sobre a lactose.

Com estes dois novos meios conseguia Mandelbaum não só verificar a alcalinização ou a acidificação dos terrenos culturaes pelas bacterias, mas ainda demonstrar a inhibição do crescimento dos germes do genero *Proteus* e de todos os coccos que se desenvolviam no meio de Drigalski-Conradi.

Anteriormente, porém, em 1892, Sommaruga (18) já se havia utilizado do acido rosolico addicionado ao caldo simples para fazer a differenciação entre os





bacillos coli e typhicos. Mandelbaum, porém, empregou para suas pesquisas meios solidos com hydratos de carbono e alcooes, utilizando como indicador, em um delles, o acido rosolico e, no outro, o sangue humano desfibrinado. No meio em que addicionava sangue ao agar, para indicar a producção da hemolyse ou a formação de pigmentos por alguns germes, não addicionava o acido rosolico.

Em 1910, Stahr (19), empregando o meio aconselhado por Mandelbaum, verificou que o mesmo não era muito apropriado para o isolamento dos germes do grupo coli-typhico, porque a acidificação produzida pelos bacillos coli se diffundia rapidamente pelo meio de cultura e assim mascarava certas colonias que o alcalinizavam.

Em um segundo trabalho publicado por Mandelbaum (20), em 1902, confessa este pesquisador ter verificado o mesmo inconveniente do meio, e, para corrigil-o resolveu modificar a formula primitiva, substituindo-a pela seguinte:

| | |
|---|---|
| Agar commum . . . . . . . . . . . . . | 100 c.c. |
| Lactose . . . . . . . . . . . . . . . | 3,0 grs. |
| Acido rosolico (sol. alcoolica a 1% ) . . . . | 3 c.c. |
| Sangue humano desfibrinado . . . . . . | 10 c.c. |

Para Mandelbaum, a addição do sangue, além de corrigir os inconvenientes da diffusão da acidez produzida pelos b. coli, vinha diminuir a acção impediente do acido rosolico (que julgava muito forte), bem como a de outras substancias seleccionadoras até então usadas. Conclue das suas experiencias que foi graças á addição do sangue ao meio que lhe foi possivel isolar o bacillo de Eberth das fezes de 4 doentes de febre typhoide, o que não tinha conseguido empregando o meio de Drigalski-Conradi. No seu novo meio as colonias de b. typhico appareciam com a côr vermelha e as do b. coli tinham uma cor verde-pardacenta que podia chegar a ficar preta.

Pfeilschmidt (21), em 1915, por suggestão de Schmorl, verificou o valor do meio de Mandelbaum (agar-sangue-lactosado-acido rosolico), não só estudando as culturas do laboratorio, mas ainda realizando exames de fezes com o fim de isolar o b. typhico. Seu proposito foi verificar si o novo meio era superior aos já conhecidos de Drigalski-Conradi, de Endo e de verde de malachite, fazendo para isso culturas em todos elles e comparando os resultados. De suas pesquisas concluiu que o meio de Mandelbaum tinha o mesmo valor que os de Drigalski-Conradi e do de Endo, sendo, porém, inferior ao de verde de malachite para os exames de fezes.

Analysando os protocollos apresentados por Pfeilschmidt, verificámos que cresceram no meio empregado bacillos typhicos, paratyphicos, coli, alcaligenes, dysentericos, estreptococcos e estaphylococcos.

Fischer (22), em um tratado publicado em 1912, aconselha o uso do meio de Mandelbaum no qual as colonias se differenciam mais facilmente pela côr.

achando ainda que era um meio muito apropriado para o isolamento do bacillo coli, mesmo quando existente em pequena quantidade.

Em 1918 Bronfenbrenner (23), procurando verificar a concentração dos iões de H nas culturas em meio liquido durante o periodo de crescimento dos germes, empregou uma mistura de 2 indicadores — o azul da China e o acido rosolico, de modo a poder fazer a leitura directa do pH mediante a comparação dos tubos de cultura com uma serie padrão que tinha como indicador a mesma mistura azul da China — acido rosolico.

De todos estes trabalhos publicados até 1918 não se tirou nenhuma conclusão definitiva sobre as propriedades impedientes do acido rosolico sobre os germes Gram-positivos, propriedades que poderiam então ser utilizadas para o isolamento das bacterias Gram-negativas. Além disso, a addição do sangue ao meio de Mandelbaum, veiu, naturalmente, modificar a acção seleccionadora do acido rosolico, tornando-o menos activo e complicando inutilmente a technica do seu preparo.

Com o decorrer do emprego deste indicador, cujo poder bactericida Bronfenbrenner pensava poder ser desprezado, em virtude do facto de se empregar o corante em pequenas quantidades, foi verificado (24) que esta innocuidade existia somente para os germes Gram-negativos examinados, não acontecendo o mesmo com os varios germes Gram-positivos posteriormente experimentados. Para essas verificações foram cultivadas, durante 4 dias, 78 raças differentes de germes Gram-positivos no seguinte meio:

Solução em agua destillada de peptona de Difco a 1 %

Chloreto de sodio a 0,5%

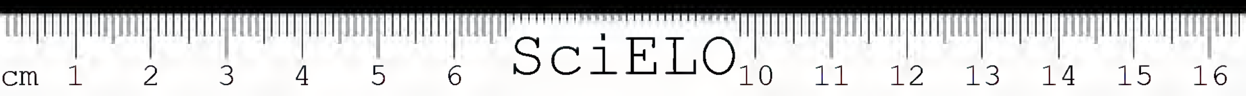
Solução alcoolica dos corantes (A. C. e R.) misturadas e separadamente e em proporções differentes.

Das experiencias feitas concluiram Bronfenbrenner e collaboradores que a acção bactericida do indicador C. R. era devida exclusivamente ao acido rosolico, mas que este, mesmo em quantidade 25 vezes maior da que impedia o crescimento dos germes Gram-positivos, não exercia acção inhibidora alguma sobre os bacillos typhicos, paratyphicos, dysentericos, coli e outros bacillos Gram-negativos. Concluiram ainda mais que a apparente acção selectiva do acido rosolico associada ao facto de não impedir o crescimento dos bacillos dysentericos, tornava este corante particularmente aconselhado para o isolamento das bacterias intestinaes.

Foi suggestionados pelos trabalhos destes bacteriologistas que resolvémos empregar o acido rosolico em *meios solidos*, em fevereiro de 1923, depois de uma serie de exames preliminares no Instituto Bacteriologico de São Paulo.

Consultando a literatura, depois de termos realizado todas as nossas pesquisas verificamos que, já em 1920, Max Levine (11) aconselhava o uso da mistura C. R. de Bronfenbrenner em *meio solido*, por ter observado tambem que estes indicadores eram muito pouco nocivos aos b. dysentericos, tanto em culturas puras, como misturados ás fezes. O meio que recommendava era o seguinte:





| | |
|---|---|
| Agua destillada . . . . . . . . | 1.000 c.c. |
| Agar . . . . . . . . . . . | 15 grs. |
| Peptona . . . . . . . . . . | 10 grs. |
| Phosphato dipotassico . . . . . | 4 grs. |

A 100 c.c. deste meio, fundido, addicionar:

| | |
|---|---|
| Lactose . . . . . . . . . . | 5 c.c. (1 gr.) |
| Glycose . . . . . . . . . . | 1 c.c. (0,05 gr.) |
| Acido rosolico (sol. alcoolica a 1%) . | 1 c.c. (0,01 gr.) |
| Azul da China (sol. em $H^2O$ a 0,5%) . | 1 c.c. (0,005 gr.) |
| pH. . . . . . . . . . . . | 7,4 a 7,5 |

Como vemos na formula acima entram na composição deste meio dois hydratos de carbono, a lactose e a glycose. Julgamos haver grande desvantagem em se addicionar a glycose ao meio, devido á difficuldade que dahi resultaria para o isolamento dos bacillos do grupo typhico-dysenterico, pois sabe-se que todas as bacterias dos generos *Eberthella, Salmonella, Shigellas* e *Escherichia,* com excepção da *Esch. galactophila,* atacam tal hydrato de carbono.

## METHODO DE ESTUDO

Empregámos o seguinte meio no qual o acido rosolico actua com o duplo papel de seleccionador e indicador:

| | |
|---|---|
| Agua destillada . . . . . . . . . . | 1.000 grs. |
| Gelose . . . . . . . . . . . . . | 30 " |
| Extracto de carne . . . . . . . . . | 5 " |
| Peptona . . . . . . . . . . . . | 10 " |

Ao meio assim preparado addiciona-se 2% de lactose e 1% da solução alcoolica stock de acido rosolico (*).

O meio é preparado do seguinte modo:

Ajuntar a agua ao agar, reservando 10% (ou 100 grs. por kilo) para dissolver os outros componentes.

---

(*) A solução alcoolica de acido rosolico é preparada da seguinte maneira:

| | |
|---|---|
| Acido rosolico de Merck . . . . . . . . . . | 1 gr. |
| Alcool absoluto . . . . . . . . . . . . . | 50 c.c. |
| Agua destillada. . . . . . . . . . . q.s.p. | 100 c.c. |

Dissolver o agar aquecendo na autoclava a 121°C durante 30 minutos. Dissolver a peptona, o extracto de carne, aquecendo ao banho-maria. Combinar as duas partes e restabelecer o peso correspondente a todos os ingredientes.

Titular com uma solução ao vigesimo de carbonato de sodio e ajustar a reacção entre o pH 7.4 e 7.6 (-0,1 a -0,2) com a solução normal de carbonato de sodio ($Na^2CO^3$). Aquecer na autoclava a 123°C durante 10 minutos e filtrar em algodão. Esterilizar na autoclava a 121°C durante 30 minutos.

Addicionar a 100 c.c. do meio 10 c.c. da solução esteril de lactose a 20% e 1 c.c. da solução de acido rosolico a 1%. Agitar o meio e distribuir em placas de Petri.

## PARTE EXPERIMENTAL

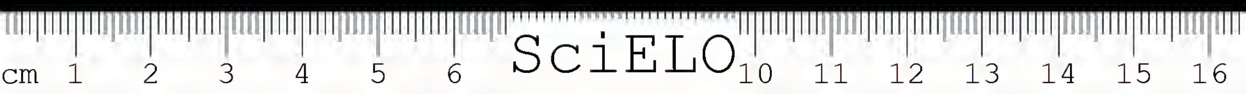
Antes de iniciarmos o emprego do novo methodo, repetimos as experiencias de Bronfenbremer e seus collaboradores (24), empregando, porém, um meio solido.

Verificámos nesse meio solido a acção impediente do acido rosolico em relação aos germes do grupo coli-typhico-dysenterico e sobre varios germes Gram-positivos existentes nas collecções dos Institutos Bacteriologico e Butantan.

As nossas conclusões foram as mesmas que tiveram os pesquisadores acima referidos no que concerne á inhibição do crescimento da maioria, quasi que absoluta, dos germes Gram-positivos examinados. Em nossas pesquisas empregámos apenas o acido rosolico e não a mistura C. R. (azul da China e acido rosolico), porque só tinhamos em vista o isolamento dos bacillos do grupo coli-typhico-dysenterico.

*Acção do acido rosolico sobre os germes Gram-positivos e Gram-negativos* — Para a verificação da acção do acido rosolico em meio solido sobre os germes Gram-positivos e Gram-negativos, semeámos, em placas de Petri com agar-acido rosolico, os seguintes germes:





QUADRO 1

| GERMES | Numero de amostras | Resultados |
|---|---|---|
| Eberthella typhi . . . . . . . . | 20 | cresceu |
| Salmonella paratyphi. . . . . . | 16 | " |
| " schottmülleri. . . . . | 15 | " |
| Shigella dysenteriae . . . . . . | 11 | " |
| " " var. Flexner . . | 14 | " |
| " " " Hiss . . . | 12 | " |
| " " " Harris . . | 1 | " |
| Escherichia communior . . . . . | 21 | " |
| " communis . . . . . | 20 | " |
| Alcaligenes faecalis . . . . . . | 40 | " |
| Bacillus prodigiosus . . . . . . | 1 | " |
| Chromobacterium violaceum . . . | 4 | " |
| Pasteurella pestis. . . . . . . | 40 | " |
| Pseudomonas aeruginosa. . . . . | 3 | " |
| Corynebacterium diphtheriae . . . | 14 | não cresceu |
| " hoffmannii . . . | 5 | " " |
| " xerosis . . . . | 4 | " " |
| Bacillus subtilis . . . . . . . . | 3 | " " |
| Staphylococcus aureus. . . . . . | 21 | " " |
| " albus . . . . . . | 3 | " " |
| Streptococcus scarlatinae. . . . . | 10 | " " |
| " cardioarthritidis. . . | 3 | " " |
| Klebsiella pneumoniae. . . . . . | 2 | " " |
| Clostridium tetani. . . . . . . | 3 | " " |
| " welchii . . . . . . | 1 | " " |
| " sporogenes . . . . . | 1 | " " |
| Bacillus timothy . . . . . . . | 1 | " " |
| " anthracis. . . . . . . | 3 | cresceu |

Verificámos no quadro acima que todos os bacillos Gram-negativos cresceram no meio que continha acido rosolico na proporção de 0,01%, mas os germes Gram-positivos, exceptuando apenas as 3 raças de *Bacillus anthracis,* não vegetaram no agar-rosolico.

Com o fim de confirmar ainda a acção impediente de certas substancias sobre os germes Gram-positivos, foram expostas ao ar durante 1 hora na mesma occasião e no mesmo local tres placas de Petri, uma com agar rosolico, outra com o meio de Drigalski-Conradi e a terceira com agar-commum.

Deste exame resultou o seguinte:

1) Placa com agar-rosolico: cresceram apenas 15 colonias de bacillos e diplococcos Gram-negativos: *não cresceram germes Gram-positivos.*

2) Placa com meio de Drigalski-Conradi: cresceram 55 colonias de bacillos com coccos Gram-positivos e negativos.

3) Placa com agar commum: cresceram 121 colonias de bacillos, coccos e diplococcos Gram-negativos e positivos.

Em igualdade de condições, portanto, o acido rosolico impediu o crescimento dos germes Gram-positivos do ar.

Confirmada a acção impediente do acido rosolico sobre os germes Gram-positivos, tratámos de comparar essa acção com a dos meios de Endo e Drigalski-Conradi, obtendo os seguintes resultados:

QUADRO 2

| Germes semeados | N.º de raças | Meios | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Endo | Drigalski-Conradi | Agar-Acido rosolico |
| 1) E. typhi. . . . . . . . | 1 | Cresceu | Cresceu | Cresceu |
| 2) S. paratyphi . . . . . | 1 | " | " | " |
| 3) S. schottmülleri. . . . . | 1 | " | " | " |
| 4) Sh. dysenteriae. . . . . | 1 | " | " | " |
| 5) Sh. paradys. var. Flexner . | 1 | " | " | " |
| 6) Sh. " " Hiss . . | 1 | " | " | " |
| 7) Es. communis . . . . . . | 1 | " | " | " |
| 8) Staphylococcus . . . . | 1 | " | não cresceu | não cresceu |
| 9) Streptococcus . . . . . . | 1 | não cresceu | cresceu | " " |

*Verificação comparativa do poder impediente de alguns meios para bacillos typhicos* — Uma pesquisa de grande importancia e que se impunha antes de se aconselhar o uso de qualquer meio novo era, sem duvida, um estudo comparativo entre elle e os outros mais commummente empregados para o isolamento dos bacillos coli-typhicos. Para isso, semeámos 0,1 de c.c. de cultura, de 24 horas em caldo simples, de varias raças de bacillos typhicos diluidas a 1/100.000, em placas de Petri com os seguintes meios: agar commum, agar-acido rosolico, Drigalski-Conradi, Endo e verde brilhante em duas proporções differentes: 0,3% e 0,4%:

QUADRO 3

| Data | Raças de B. typhico | Meios | Numero de germes em cada placa de Petri |
|---|---|---|---|
| 10 - I - 27 | Eb. typhi 301 | Agar-commum | Incontavel |
| " " " | " | Agar-A. rosolico | " |
| " " " | " | Drigalski-Conradi | " |
| " " " | " | Endo | 38 |
| " " " | " | Verde brilhante a 0,3 % | Incontavel |
| " " " | " | Verde brilhante a 0,4 % | " |
| 10 - I - 27 | Eb. typhi 141 | Agar-commum | Incontavel |
| " " " | " | Agar-A. rosolico | " |
| " " " | " | Drigalski-Conradi | " |
| " " " | " | Endo | " |
| " " " | " | Verde brilhante a 0,3 % | " |
| " " " | " | Verde brilhante a 0,4 % | " |
| 7 - IV - 27 | Eb. typhi 3 | Agar-commum | Incontavel |
| " " " | " | Agar-A. rosolico | " |
| " " " | " | Drigalski-Conradi | " |
| " " " | " | Endo | " |
| " " " | " | Verde brilhante a 0,3 % | 322 |
| " " " | " | Verde brilhante a 0,4 % | 940 |
| 7 - IV - 27 | Eb. typhi 661 | Agar-commum | Incontavel |
| " " " | " | Agar-A. rosolico | " |
| " " " | " | Drigalski-Conradi | " |
| " " " | " | Endo | 243 |
| " " " | " | Verde brilhante a 0,3 % | Incontavel |
| " " " | " | Verde brilhante a 0,4 % | " |

Pelos resultados obtidos verificámos que houve inhibição do crescimento dos germes apenas nos meios de Endo e de verbe brilhante. Desejando, porém, approximar as nossas experimentações o mais possivel das condições naturaes, resolvémos cultivar fezes de doentes de febre typhoide, emulionadas em 10 cc. de caldo commum, ao qual eram addicionadas quantidades differentes de culturas de 24 horas em caldo simples dos seguintes germes: b. typhico, b. paratyphico A e B, b. Shiga, b. Flexner, b. Y (Hiss), b. Strong, Staphylococcus e Streptococcus.

Das emulsões preparadas semeava-se uma alça de platina em placas de Petri contendo os meios de Endo, Drigalski-Conradi e agar-acido rosolico, sendo identificados os germes do grupo typhico-dysenterico reisolados.

O quadro seguinte resume os resultados obtidos das semeaduras nas placas com os meios de Endo, Drigalski-Conradi e agar-acido rosolico.

QUADRO 4

| Germes semeados | N.º de raças semeadas | MEIOS | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Endo | | Drigalski-Conradi | | Agar-acido rosolico | |
| | | Reisoladas | Porcenta-gem | Reisoladas | Porcenta-gem | Reisoladas | Porcenta-gem |
| Eberth. typhi. . . . . . . . . . . | 5 | 4 | 80 % | 5 | 100% | 5 | 100% |
| Salm. paratyphi . . . . . . . . . . | 5 | 2 | 40 % | 2 | 40% | 3 | 60% |
| Salm. schottmülleri . . . . . . . . | 5 | 4 | 80 % | 2 | 40% | 2 | 40% |
| Shig. dysenteriae. . . . . . . . . . | 5 | 0 | 0 % | 2 | 40% | 3 | 60% |
| Shig. paradys. var. Hiss . . . . . . | 5 | 1 | 20 % | 2 | 40% | 3 | 60% |
| Shig. paradys. var. Flexner . . . . | 3 | 0 | 0 % | 2 | 66% | 2 | 66% |
| Shig. paradys. var. Strong . . . . | 2 | 0 | 0 % | 0 | 0% | 1 | 50% |
| TOTAL . . . . . . . . . . . . . | | | 36 % | | 50 % | | 63% |

Em outra serie de experiencias fizemos o exame comparativo entre o meio de verde brilhante a 0,3 e 0,4% e o meio de acido rosolico. Nas placas assim preparadas foram semeadas emulsões de fezes de pessoas portadoras de b. typhico ás quaes addicionámos 0,1 de c.c. de uma cultura de bacillo de Eberth de 24 horas em caldo simples.

Os resultados foram os seguintes:

QUADRO 5

| MEIOS | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Verde brilhante a 0,3 % | | | Verde brilhante a 0,4 % | | | Agar-acido rosolico | | |
| N.º de raças semeadas | N.º de raças reisoladas | Porcentagem | N.º de raças semeadas | N.º de raças reisoladas | Porcentagem | N.º de raças semeadas | N.º de raças reisoladas | Porcentagem |
| 20 | 14 | 70 % | 20 | 11 | 55 % | 20 | 13 | 65 % |

Pesquisas semelhantes foram feitas com o meio de Teague, agar-rosolico e agar commum (testemunha), dando os seguintes resultados:

QUADRO 6

| Raças | MEIOS | | |
|---|---|---|---|
| | Agar | Agar rosolico | Teague — pH 8.0 |
| Eberth. typhi — 8 raças . . . . | Incontavel | Incontavel | Incontavel |
| Salm. paratyphi — 4 raças . . . . | " | " | " |
| Salm. paratyphi — n.° 988 . . . . | " | 1.052 | " |
| Salm. schottmülleri — 5 raças . . . | " | Incontavel | " |
| Shig. dysenteriae — 13 raças . . . | " | " | " |
| Shig. dysenteriae — n.° 168 . . . . | " | 4.048 | 2.896 |
| Shig. dysenteriae — Butantan . . . | 978 | 728 | 24 hs. 0; 48 hs. 538 |
| Shig. dysenteriae — n.° 1238. . . . | 300 | 200 | 220 |
| Shig. dysenteriae — n.° 1435. . . . | Incontavel | 39 | 90 |
| Shig. dysenteriae — n.° 368 . . . . | 120 | 0 | 38 |
| Shig. dysenteriae — Paris . . . . | 177 | 320 | 0 |
| Shig. dysenteriae — n.° 1762 . . . | Incontavel | 0 | 0 |
| Shig. dysenteriae — n.° 303 . . . . | " | Incontavel | 261 |
| Shig. dysenteriae — n.° 429 . . . . | 4 | " | 0 |
| Shig. dysenteriae — n.° 29 . . . . | Incontavel | 500 | 561 |
| Shig. paradys. var. Flexner — 7 raças. | " | Incontavel | Incontavel |
| Shig. paradys. var. Flexner — n.° 37 . | 12 | 150 | 55 |
| Shig. paradys. var. Flexner — n.° 677 . | 0 | 13 | 0 |
| Shig. paradys. var. Flexner — R. . . | 600 | Incontavel | Incontavel |
| Shig. paradys. var. Flexner — n.° 1170 | Incontavel | " | 80 |
| Shig. paradys. var. Flexner — Paris . | 300 | 21 | 30 |
| Shig. paradys. var. Hiss — 14 raças . | Incontavel | Incontavel | Incontavel |
| Shig. paradys. var. Harris — 9 raças. | " | " | " |
| Shig. paradys. var. Harris — n.° 11 . | 243 | 200 | 100 |

Comparando-se os resultados obtidos, vemos que os bacillos typhicos, paratyphicos A e B dysentericos Y e Harris cresceram perfeitamente nos tres meios. Quanto aos bacillos Shiga e Flexner, no meio de acido rosolico o crescimento foi um pouco superior.

## EXAMES DE HEMOCULTURAS EM CASOS DE INFECÇÕES TYPHICAS

Foram praticadas de 5 de fevereiro de 1923 a 31 de dezembro de 1930, 8.524 hemoculturas em doentes suspeitos de febre typhoide ou paratyphoide.

Antes, porém, de se adotar na rotina a applicação do novo meio, fizemos a semeadura de um numero elevado (323) de hemoculturas em bile, nos meios de Endo e acido rosolico com o fim de verificar se havia alguma differença entre os resultados obtidos com um e outro meio. Não se tendo observado discordancia alguma, ficou desde aquella epoca em uso somente o meio de acido rosolico.

Das 8.524 hemoculturas praticadas, 2.315 foram positivas e 6.209 negativas, sendo as positivas assim distribuidas:

| | |
|---|---|
| Eb. typhi . . . . . . | 2 243 |
| S. paratyphi . . . . | 63 |
| S. shottmülleri . . . . | 9 |

Durante o mesmo periodo foram realizadas ainda 8.063 exames bacteriologicos de fezes, não só em convalescentes de febre typhoide, mas ainda, em casos de dysenteria, tendo sido isolados os seguintes germes:

| | |
|---|---|
| Eb. typhi . . . . . . . . . . . . . . | 355 |
| S. paratyphi . . . . . . . . . . . . . | 50 |
| S. shottmülleri . . . . . . . . . . . . | 133 |
| Sh. dysenteriae . . . . . . . . . . . . | 80 |
| Sh. paradysenteriae var. Flexner . . . . . . | 48 |
| Sh. paradysenteriae var. Hiss . . . . . . . | 115 |
| Sh. paradysenteriae var. Harris . . . . . . . | 15 |
| S. morgani . . . . . . . . . . . . . | 10 |

*Aspectos das colonias dos germes do grupo coli-typhico-dysenterico sobre as placas de acido rosolico* — Não se pode, pela simples inspecção das placas, separar entre si as colonias dos bacillos que não fermentam a lactose, porque todas se apresentam mais ou menos com o mesmo aspecto e coloração rosea. São, porém, facilmente distinguiveis das colonias dos bacillos coli as quaes por sua vez podem ser separadas em coli *communis* e *communior*.

As colonias dos primeiros são esbranquiçadas, ao passo que as dos segundo apresentam uma coloração amarella alaranjada. As colonias crescem, em geral bem separadas, sendo facil seu isolamento, como vemos na Fig. no. 1.

*Exame bacteriologico de aguas* — As placas de agar lactosado com acido rosolico constituem, a nosso vêr, um dos melhores meios para o isolamento dos bacillos coli das aguas.

A technica por nós usada nos innumeros exames que o Instituto procedeu nas aguas de São Paulo e de outras localidades do Estado, foi, em linhas geraes, a seguinte:

15



Colhida a amostra de agua em frascos esterilizados de 100 c.c. de accordo com as recommendações usuaes, eram feitas semeaduras em placas de agar commum para a contagem dos germes nas temperaturas de 37°C e 20°C, ao mesmo tempo que semeavam em tubos com caldo lactosado (tubos de fermentação) quantidades crescentes da agua a examinar para a pesquisa dos germes thermophilos e dos germes fermentadores da lactose.

Para a pesquisa do bacillo coli retiravamos, ao fim de 24 a 48 horas, uma pequena quantidade da cultura do tubo que tivesse recebido a menor quantidade de agua e que mostrasse desprendimento de gas. Semeadas uma ou duas gottas em uma placa de agar-acido rosolico-lactosado, distribuia-se a cultura pela placa com um bastão de vidro em L, semeando-se em seguida mais duas placas de Petri com o mesmo meio e sem flambar o bastão. No dia seguinte verificava-se a presença das colonias de coli que facilmente se reconheciam pelo seu aspecto caracteristico.

Com alguma pratica do meio chega-se a reconhecer facilmente as colonias do *B. coli*, podendo-se ainda differenciar as colonias do *B. coli communis* da do *B. coli communior*, como já assignalámos.

A passagem das colonias de bacillos coli *communis* e *communior* pela serie de Hiss sempre confirmou os exames previos feitos nas placas. As colonias do bacillo *coli communior* se apresentam com a côr amarella clara, côr de palha, ao passo que as do *coli communis* são amarellas mais escuras, tirante ao alaranjado.

Este aspecto, verificado, quer nos exames de agua, quer nos exames de fezes, apresenta uma notavel constancia.

Outros germes Gram-positivos aerobios e anaerobios da agua podem produzir o desprendimento de gas nos tubos com agar-lactosado, mas estes germes, que não têm nenhuma importancia no ponto de vista hygienico, excepto o *C. welchii* que é anaerobio, transplantados para as placas de agar-rosolico, não se desenvolvem. Em nenhum exame de agua encontrámos no meio com acido rosolico qualquer bacillo Gram-positivo.

Foram praticados 233 exames bacteriologicos de agua, dos quaes 186 revelaram a presença do *B. coli*.

*Emprego do acido rosolico como indicador na serie de Hiss e no triplice assucar* — Dados os conhecidos inconvenientes do litmus, que foi o primeiro indicador empregado em bacteriologia, resolvemos tentar o emprego do acido rosolico na serie assucarada de Hiss. Este indicador apresenta, como o litmus, o ponto de viragem ao redor do pH — 7 e, além disso, não possue nenhum dos seus inconvenientes, não é alterado pelo calor nem pela luz (23), é de custo relativamente barato e não tem poder inhibitivo sobre os germes que se tem em vista estudar nestes meios.

Os resultados foram os mais satisfactorios possiveis, sendo desde então o unico indicador adoptado para o estudo da acção dos germes do grupo coli-typhico-dysenterico sobre os hydratos de carbono, no Instituto Bacteriologico de São Paulo.

Foram addicionados ao meio de Hiss (25), cuja formula damos abaixo, as seguintes substancias, na proporção de 1%: dextrose, lactose, maltose, saccharose, xylose e mannita.

Meio empregado (Hiss):

| | |
|---|---|
| Agua . . . . . . . . . . . . . . | 500 c. c. |
| Gelose . . . . . . . . . . . . . . | 4 grs. |
| Peptona . . . . . . . . . . . . . . | 5 grs. |
| Extracto de carne . . . . . . . . . . | 2 grs. |
| Chloreto de sodio . . . . . . . . . . | 2 grs. |
| Gelatina . . . . . . . . . . . . . . | 20 grs. |
| Acido rosolico (Merck) a 1% . . . . . . | 5 c. c. |

Depois de esterilizado addicionam-se ao meio os varios hydratos de carbono (*) fazendo-se a distribuição em pequenos tubos de ensaio (tubos de Wassermann) que são conservados no laboratorio. Nesses meios a acção dos germes sobre os assucares se faz sentir com grande nitidez e rapidamente (6 a 8 horas). O meio antes do crescimento dos bacillos tem uma coloração vermelha que se transforma em amarello champanha quando se dá a producção de acidos; estes são em geral acidos volateis (26) que se diffundem rapidamente através do meio de cultura. Do mesmo modo a formação de gas pelos germes é notada sem a menor difficuldade neste meio semi-solido, motivo pelo qual o preferimos aos meios liquidos (Fig. n.º 2). Empregamos ainda com bom resultado o mesmo indicador no meio de triplice assucar em substituição ao indicador Andrade.

— A maioria dos serviços technicos deste trabalho foram executados pela nossa distincta auxiliar senhorita Maria Arantes, e é com prazer que lhe apresentamos aqui os nossos agradecimentos, assim como aos demais funccionarios do Instituto que concorreram para as mesmas pesquisas.

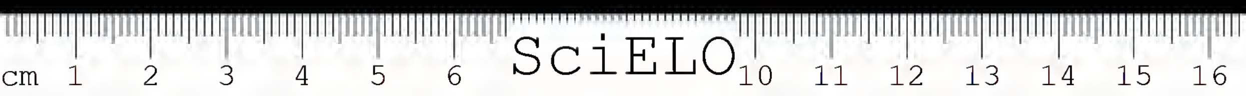
## CONCLUSÕES

1. Foi feito um resumo historico sobre o emprego do acido rosolico para o estudo dos germes do grupo coli-typhico-dysenterico.

---

(*) Recommendamos o emprego dos carbohydratos esterilizados pela filtração ou pelo aquecimento em meio neutro.





2. Mandelbaum foi quem primeiro se utilizou deste corante em meios solidos para taes estudos, empregando-o na proporção de 3 centigrammas por cento (0,03%): Bronfenbrenner e seus collaboradores recommendam uma solução a 0,005%: nós empregámos o corante na proporção de 1 centigramma para 100 de meio (0,01%).

3. Foram confirmados os achados de Bronfenbrenner e seus collaboradores no que diz respeito á acção impediente do acido rosolico sobre os germes Gram-positivos, quer fossem elles recentemente isolados, quer se tratasse de exemplares já existentes na collecção de culturas do Instituto.

4. O acido rosolico de Merck reune a dupla vantagem de seleccionador e indicador para o estudo dos germes do grupo coli-typhico-dysenterico.

5. Empregado comparativamente com os meios de Endo, Drigalski-Conradi, Teague e verde brilhante, mostrou o meio com acido rosolico ser o que reune as maiores vantagens para o isolamento dos germes do grupo coli-typhico-dysenterico. A facilidade do seu preparo, que não apresenta a menor complicação para os que possuem technica de bacteriologia, sua estabilidade, seu baixo custo e, principalmente, a constancia dos resultados obtidos, verificados em milhares de exames executados desde 1923, fazem deste meio um dos melhores actualmente conhecidos para o isolamento e estudo dos germes do grupo coli-typhico-dysenterico.

6. O meio com acido rosolico vem sendo usado no Instituto Bacteriologico de São Paulo desde 5 de fevereiro de 1923 com vantagem sobre todos os outros.

7. Em 323 hemoculturas feitas comparativamente no meio de Endo e no de agar-acido rosolico-lactosado, houve perfeita concordancia de resultados, sendo depois disso abandonado o primeiro, ficando em uso, na rotina, somente o segundo.

8. Pela inspecção das placas de Petri com agar lactosado-acido rosolico faz-se rapidamente a differenciação do *B. coli communior* e *B. coli communis* e dos *B. aerogenes*, de um lado, dos b. typhicos, paratyphicos, dysentericos e *faecalis alcaligenes*, do outro.

9. O agar lactosado-acido rosolico em placas de Petri constitue um excellente meio para o exame bacteriologico da agua, em substituição ao de Endo e outros empregados para o mesmo fim.

10. O acido rosolico é empregado na serie de Hiss e no meio de triplice assucar com reaes vantagens sobre os demais indicadores.

## RESUMO

O estudo feito dos meios mais communmente empregados para o isolamento dos germes do grupo coli-typhico-dysenterico comparativamente com o emprego do acido rosolico nos mesmos demonstrou as vantagens da addição desta substancia, por motivos de economia, facilidade do preparo e maior efficiencia:

1) O acido rosolico de Merck reune as vantagens de ser ao mesmo tempo seleccionador e indicador.

2) Pela simples inspecção das placas de Petri com agar-lactosado-acido-rosolico, é possivel fazer-se a differenciação dos b. coli communis, coli communior e lactis aerogenes de um lado, dos b. typhicos, paratyphicos, dysentericos e f. alcaligenes do outro.

3) O agar-lactosado acido rosolico constitue um excellente meio para o exame bacteriologico da agua em substituição ao de Endo e outros.

4) O acido rosolico foi empregado como indicador na serie de Hiss.

5) A facilidade do seu preparo, que não apresenta a menor complicação, para os que possuem technica de bacteriologia, sua estabilidade, seu baixo custo e, principalmente, a constancia dos resultados obtidos, verificados em milhares de exames executados desde 1923, fazem deste meio um dos melhores actualmente conhecidos para o isolamento e estudo dos germes do grupo coli-typhico-dysenterico.



## ABSTRACT

A study made with the media usually employed in the isolation of germs of the coli-typhoid-dysentery group shows the advantage of adding rosolic-acid to those media for reasons of economy, easier preparation and greater efficiency.

Merck's rosolic-acid at the same time plays the rôle of selective and indicator so that by simply looking at Petri plates with agar-lacto-e-rosolic acid it is possible to distinguish *Escherichia coli*, *E. communior* and *Aerobacter aerogenes*, on the one hand, from *Eberthella typhi*, *Salmonella paratyphi* and *Salmonella schottmulleri*, the different types of *Shigella dysenteriae* and *Alcaligines faecalis*, on the other hand.

Agar-lactose-rosolic acid represents an excellent medium to take the place of Endo's and others in the bacteriologic examination of water.

As an indicator rosolic-acid has been used in Hiss' series with success.

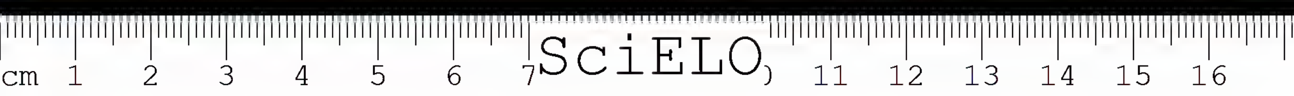
Thousands of examinations made since 1923 have proved how easy and simple the preparation of rosolic-media is in the hands of trained bacteriologists; they also have shown how stable, uncostly and especially constant in their results such media are, thus becoming one of the best among those employed in both the isolation and the study of the coli-typhoid-dysentery group of bacteria.

## BIBLIOGRAPHIA


1. *Conradi, H. & von Drigalski* — Zeitschr. f. Hygiene XXXIX:283.1902.
2. *Churchman, J. W.* — J. Exper. Med. XVI:221.1912 et XVII:373.1913.
3. *Churchman, J. W. & Michael, H.* — J. Exper. Med. XVI:822.1912.
4. *Krumwiede, C. & Pratt, J. S.* — J. Exper. Med. XIX:20.1914.
5. *Hall, I. C. & Taber, L. B.* — J. Inf. Dis. XV:566.1914.
6. *Endo, S.* — Centralbl. f. Bakt. Orig. XXXV:109.1904.
7. *Abt, G.* — Rev. d'Hygiène XLV:1.1923.
8. *Kendal, A. & Day, A.* — J. Med. Res. XXV:95.1911.
9. *Robinson, & Rettger,* — J. Med. Res. XXIV:363.1916.
10. *Holt-Harris, J. E. & Teague, O.* — J. Inf. Dis. XVIII:596.1916.
11. *Levine, Max* — J. Inf. Dis. XXVII:31.1920.
12. *Krumwiede, C. & Pratt, J.* — J. Exper. Med. XIX:501.1914.
13. *Conradi, H.* — Munch. Med. Wochenschr. LV:1523.1908.
14. *Krumwiede, C.; Pratt, J. & MacWilliams, H.* — J. Inf. Dis. XVIII:1.1916.
15. *Park & Williams* — Path. Microorganisms :126.1920.
16. *Kligler, I. J.* — J. Exper. Med. XXVII:463.1918.
17. *Mandelbaum, M.* — Munch. Med. Wochenschr. LVI:2475.1909.
18. *Sommaruga,* — Zeit. f. Hyg. und Inf. XII.1892 et XV.1893.
19. *Stahr, H.* — Hyg. Rundosh. :113.1910.
20. *Mandelbaum, M.* — Munch. Med. Wochenschr. LIX:306.1912.
21. *Pfeilschmidt, dr. von* — Centralbl. f. Bakt. Orig. LXXVI:88.1915.
22. *Fischer, B.* — Kursgefasste Anleitung zür den Wicht. Hyg. Unter., Berlin. 1912.
23. *Bronfenbrenner, J.* — J. Med. Res. XXXIX.25.1918.
24. *Bronfenbrenner, J.; Schlesinger, M. J. & Soletsky, C.* — J. Bact. V:79.1920.
25. *Hiss & Zinsser* — A Text-book of Bacteriology. (Sixth Edition, 1927).
26. *Hall, M. W & Lacy, G. R.* — J. Inf. Dis. XXXVIII:15.1926.


**(Trabalho do Instituto Bacteriologico e da Secção de Bacteriologia Experimental do Instituto Butantan, apresentado como nota previa á Semana do Laboratorio, Soc. Med. Cir. S. Paulo, Janeiro de 1932).**





Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932

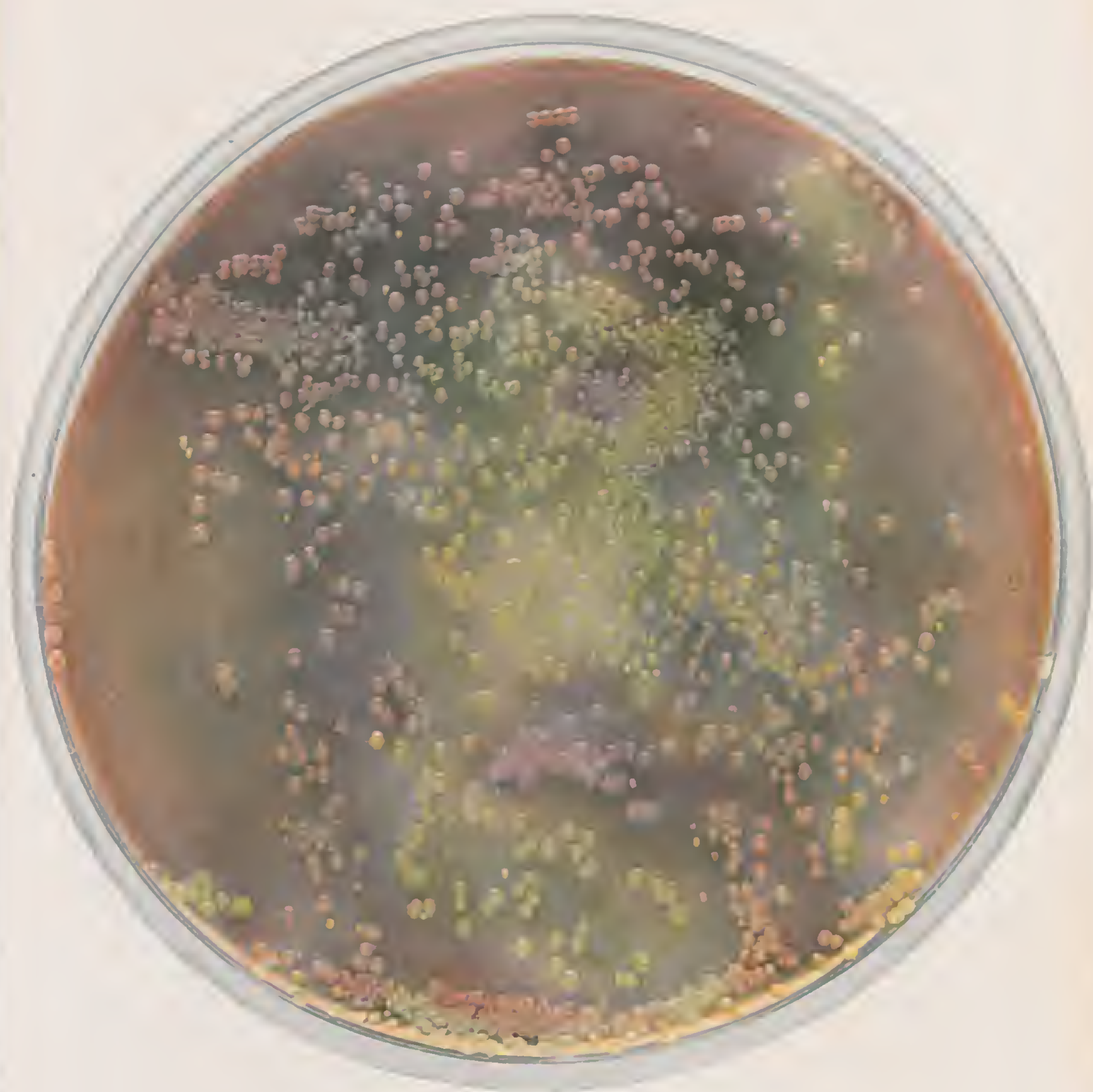
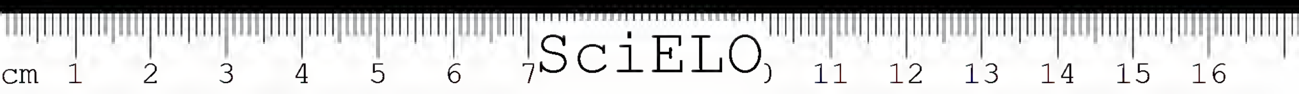


Fig. 1

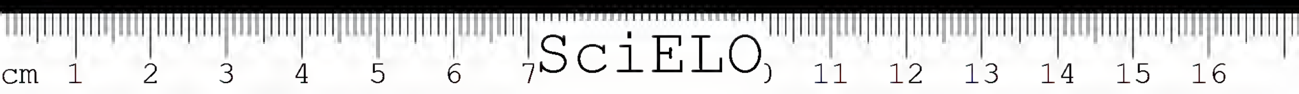
Placa de Petri com agar-rosolico.


SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. VII, 1932




Fig. 2
Serie de Hiss com indicador rosolico.

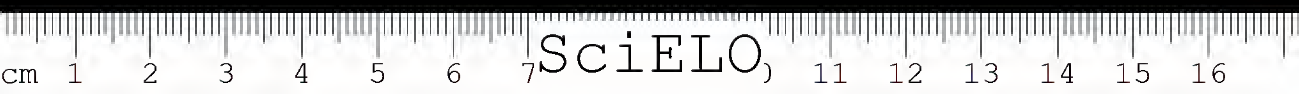

cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16

# MODERNAS
# TECHNICAS DE PREPARO DA ANTITOXINA TETANICA

POR

FLAVIO DA FONSECA

---


SciELO

612.398.8:616.854

# MODERNAS
# TECHNICAS DE PREPARO DA ANTITOXINA TETANICA

## c) Influencia da vaccinação previa de cavallos sobre o ulterior augmento do titulo antitoxico do soro

POR

FLAVIO DA FONSECA

Interessado o serviço sob nossa direcção no fornecimento de antitoxinas de alto poder neutralizante, vimos acompanhando de perto o progresso realizado ultimamente neste capitulo da sorotherapia e temos instituido uma serie de experiencias tendentes a verificar, não só os resultados assignalados em trabalhos recentes, como a possibilidade do emprego dos nossos methodos no serviço de producção de antitoxina tetanica deste Instituto.

As technicas de hyperimmunização de cavallos destinados á producção de antitoxina tetanica têm sido, de facto, consideravelmente aperfeiçoadas nestes ultimos annos, verificando-se continua e notavel elevação no poder antitoxico dos soros obtidos em varios laboratorios. Uma rapida revista da literatura recente permittirá concluir que a obtenção de soros de altos titulos antitoxicos está estreitamente ligada á adopção das novas technicas, indicadas umas pela observação casual e deduzidas outras de phenomenos occorridos no decurso da hyperimmunização.

Não menor foi o progresso relativamente ao lapso de tempo necessario para attingir-se o maximo de producção de anticorpos, pois esse prazo está hoje muito reduzido graças ao emprego da anatoxina tetanica. Realmente, o uso deste antigeno nas primeiras phases da immunização dos productores do soro anti-tetanico, determina, em um mês, immunidade sufficiente para permittir o emprego de doses iguaes a 50 e mesmo 100 c. c. de uma toxina de alto poder toxico.

Embora apresentando a grande vantagem de abreviar consideravelmente o periodo de immunização, diminuindo alem disso os seus riscos, não consegue, todavia, a anatoxina, mesmo quando inoculada em altas doses, elevar o titulo anti-

toxico além do limite attingido com a toxina, salvo em casos excepcionaes. O emprego associado da anatoxina e toxina não modifica tão pouco esses resultados, como se deprehende da literatura: ainda recentemente Savino (1), baseado em resultados obtidos com 131 cavallos immunizados, no inicio, com anatoxina e, em seguida, com toxina, em doses de 20 até 700 c. c., refere ter obtido media geral de 257 u. (americanas), com menos de 100 u. em 36 animaes e maximo de 700-800 u. em apenas 4 animaes.

Conquista de valor para a sorologia tetanica constituiu a verificação de Ramon e Descombey (2) sobre a vantagem da addição do pó de tapioca esterilizado ao antigeno tetanico, o que determinava uma producção maior de antitoxina por parte dos cavallos assim immunizados. Esta technica foi applicada ao tetano por analogia com o que se passa na producção dos soros anti-diphtericos, em que Ramon (3) já havia observado o mesmo phenomeno. Serviu de ponto de partida ás suas experiencias a occorrencia de um titulo antitoxico, mais elevado do que o habitualmente attingido, nos cavallos que, accidentalmente, apresentavam um abcesso no ponto da inoculação do antigeno. Reproduzindo experimentalmente essa condição, concluiu Ramon que o pó de tapioca esterilizado e addicionado ao antigeno diphterico, produz resultados identicos, attribuidos por elle e outros auctores ao edema (affluxo leucocytario), seguido da lenta absorpção do antigeno, phenomenos estes semelhantes ás observadas nos abcessos naturaes.

A applicação deste methodo permittiu, não só a Ramon e Descombey, como a Condrea (4), Glenny (5) e Feierabend (6), a obtenção de optimos resultados successivos. Outras substancias, além do pó de tapioca, foram ainda experimentadas com exito na formação de um precipitado ao qual ficasse adsorvido o antigeno; entre ellas estão o alume de potassio, que Glenny, Pope, Waddington e Wallace (7) observaram ter o mesmo effeito adsorvente, o sulfato de aluminio e o chloreto de calcio, este ultimo com a vantagem de ser menos toxico.

Uma outra etapa de valor para o aperfeiçoamento da producção da antitoxina tetanica, é representada pela recente technica proposta pelas auctoridades neste assumpto, Ramon e Lemétayer (8, 9, 10 e 11), que, em 1931, verificaram que cavallos submettidos um anno antes á vaccinação contra o tetano pela technica de Descombey (12), i. é, que haviam recebido, com um mês de intervallo, 2 injecções de 10 c. c. de anatoxina tetanica addicionada de tapioca, se revelavam muito melhores productores de antitoxina tetanica do que animaes não vaccinados, ao serem submettidos á hyperimmunização com antigenos addicionados de substancias não especificas. Esta technica fora, aliás, precedida por uma semelhante, devida a Glenny, Pope, Waddington e Wallace, que já em 1925 (13) tinham dado a conhecer que um repouso de um mês, instituido logo após as primeiras inoculações de toxina tetanica, permittia a elevação do titulo da antitoxina ao dobro, o que a experiencia do nosso laboratorio veiu confirmar, como se verá em trabalho anterior, escripto em collaboração com Lemos Monteiro (14).

Ramon, Lemétayer e Hamedy (15), referindo-se ao facto, apparentemente paradoxal, de a vaccinação anti-tetanica, ao contrario da diphterica, conferir essa propriedade, attribuem-no a que os cavallos, não apresentando immunidade natural ao tetano, adquirem pela vaccinação um estado de immunidade inicial que pode ser aperfeiçoada pela hyperimmunização, ao passo que, no caso da diphteria, a immunidade natural nelles existente os colloca, em relação á immunidade diphterica, no ponto que só vêm a attingir, em relação a immunidade tetanica, depois de vaccinados.

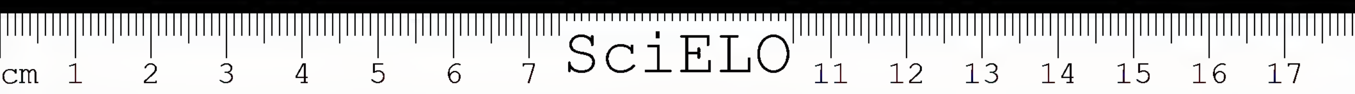
Em trabalho anterior, collaborando com Lemos Monteiro (14), tivemos opportunidade de expor os resultados conseguidos com o uso de antigenos precipitados pelo alume de potassio. Relataremos nesta nota os resultados obtidos com as primeiras hyperimmunizações de cavallos vaccinados contra o tetano pela administração de 2 injecções de anatoxina addicionada de alume de potassio, vaccinações estas que resolvêmos fazer systematicamente nos animaes do Instituto desde que nos foi entregue o serviço de tetano.

No trabalho citado (14), apresentámos um quadro demonstrativo do maior titulo obtido antes e depois de serem os animaes submettidos á immunização por toxina addicionada de 0,5 gr. de alume de potassio, verificando-se que a media geral dos valores triplicou. E' de notar, todavia, que os animaes utilizados nessa verificação eram representados pelos melhores productores, que vinham sendo aos poucos seleccionados, devendo ser attribuidos a este facto os titulos altos por nós obtidos naquella verificação, os quaes estão em contradicção apparente com os titulos relativamente baixos alcançados em cavallos não vaccinados do quadro II, que abaixo apresentamos, constituido por cavallos novos, ainda não experimentados em immunização tetanica.

A presente nota compara os resultados obtidos após a hyperimmunização de 2 grupos de cavallos com anatoxina — toxina + alume de potassio. Os animaes componentes do grupo I tinham soffrido vaccinação anti-tetanica havia 6 meses ou 1 anno, ao passo que os do grupo II não tinham sido vaccinados, tendo-lhes sido, porém, concedido o repouso de 1 mês, preconisado por Glenny, Pope, Waddington e Wallace.

*Grupo I.* 6 cavallos vaccinados contra o tetano com 2 inoculações de anatoxina + 0.5 gr. % de alume de potassio (1.ª = 10 c. c., 2.ª = 10 c. c., 20 c. c. ou 50 c. c.) e por meio de anatoxina-toxina, ambas addicionadas de alume, segundo o eschema abaixo:





## QUADRO I

### CAVALLOS VACCINADOS

| N.º | Vaccinação | | Hyperimmunização | | | | | | | | | Titulo da antitoxina obtida na 1.ª sangria |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1.ª inj. | 2.ª inj. | Anatoxina + 0,5 gr. % de alume | | | | Toxina + 0,5 gr. % de alume | | | | | |
| | | | 28.VII.32 | 5.VIII.32 | 16.VIII.32 | 24.VIII.32 | 2.IX.32 | 9.IX.32 | 16.IX.32 | 23.IX.32 | 30.IX.32 | 11.X.32 |
| 505 | 11.XII.31 10 c.c. | 19.I.32 20 c.c. | 100 c.c. | 100 c.c. | 200 c.c. | 300 c.c. | 50 c.c. | 100 c.c. | 200 c.c. | 300 c.c. | 400 c.c. | 1200 U. A. |
| 509 | 1.X.31 10 c.c. | 3.XI.31 10 c.c. | " | " | " | " | " | " | " | " | " | 1600 U. A. |
| 511 | 5.XI.31 10 c.c. | 7.I.32 10 c.c. | " | " | " | " | " | " | " | " | " | 1500 U. A. |
| 532 | 17.VI.31 10 c.c. | 23.VII.31 50 c.c. | — | 50 c.c. | 150 c.c. | " | " | " | " | " | " | 500 U. A. |
| 533 | 17.VI.31 10 c.c. | 23.VII.31 50 c.c. | — | " | " | " | " | " | " | " | " | 600 U. A. |
| 535 | 17.VI.31 10 c.c. | 23.VII.31 50 c.c. | — | " | " | " | " | " | " | " | " | 800 U. A. |

O quadro acima mostra os optimos resultados obtidos com este processo, principalmente no caso dos cavallos Nos. 505, 509 e 511, cujo titulo foi bastante superior ao dos 3 ultimos, o que pode ter sido devido, tanto a mera coincidencia, pois o numero de observações é muito reduzido para eliminar esta hypothese, como ao facto de terem aquelles recebido a mais uma injecção de anatoxina, bem como quantidade total maior deste antigeno, que foi de 700 c.c., ao passo que os 3 ultimos receberam apenas 500 c.c.. Tambem não é impossivel que a differença do titulo obtido como o soro dos 3 primeiros cavallos do grupo seja devida ao menor lapso de tempo decorrido entre a vaccinação e o inicio da hyperimmunização.

*Grupo II.* Marcha da hyperimmunização de 5 cavallos novos, não vaccinados, inoculados com toxinas da mesma preparação ou com toxinas de valor identico.

QUADRO II

CAVALLOS NÃO VACCINADOS

| No. | Hyperimmunização | | | | | | | | Titulo da antitoxina obtido na 1.ª sangria |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Anatoxina + 0,5 gr. % de alume | | | 30 dias de repouso | Toxina + 0,5 gr. de alume | | | | |
| | 2.VIII.32 | 15.VIII.32 | 21.VIII.32 | | 23.IX.32 | 30.IX.32 | 7.X.32 | 18.X.32 | 3.XI.32 |
| 516 | 50 c.c. | 150 c.c. | 300 c.c. | | 100 c.c. | 200 c.c. | 300 c.c. | 400 c.c. | 400 U. A. |
| 517 | " | " | " | | " | " | " | " | 300 U. A. |
| 519 | " | " | " | | " | " | " | " | 300 U. A. |
| 522 | " | " | " | | " | " | " | " | 300 U. A. |
| 526 | " | " | " | | " | " | " | " | 400 U.A. |

Os titulos obtidos com esta technica são, portanto, inferiores aos conseguidos após hyperimmunização de cavallos vaccinados. Mesmo desprezando os resultados dos 3 primeiros cavallos do quadro I, que receberam uma dose mais elevada de anatoxina, ainda assim resulta a vantagem a favor dos cavallos vaccinados, pois os não vaccinados, que receberam tambem menos 50 c.c. de toxina do que os vaccinados, apenas accusaram augmento de 50-100 u. (americanas) na 2.ª sangria, quando já haviam soffrido nova inoculação de 400 c.c., estando portanto em condições de superioridade em relação á 1.ª sangria dos cavallos vaccinados.

Embora não tenhamos utilizado eschemas de immunização perfeitamente comparaveis, pois os cavallos receberam mais uma inoculação (50 c.c.) de toxina, pelo menos, do que os não vaccinados, somos levados a crer, pelos resultados obtidos, que, realmente, a technica de Ramon e Lemétayer, que recommenda o emprego de cavallos vaccinados contra o tetano para o preparo da antitoxina tetanica, constitue um elemento notavel de exito neste capitulo da sorologia.

## CONCLUSÃO

A comparação dos resultados obtidos pela hyperimmunização de 2 grupos de cavallos, respectivamente, vaccinados contra tetano (por 2 injecções de anatoxina tetanica addicionada de alume de potassio) e não vaccinados, sendo o 1.º representado por 6 animaes e o 2.º por 5, é favoravel á utilização de animaes previamente vaccinados para a producção de antitoxina tetanica: apesar do pequeno numero de animaes empregados neste trabalho a differença parece bastante sensivel para permittir essa conclusão.

## ABSTRACT

In the production work of tetanus antitoxin, the immunization ot 2 groups of horses of which one had been previously "vaccinated" by means of 2 injections of toxin plus potassium alum whilst the other had not thus been prepared, has shown a marked difference favouring the application of that preparatory "vaccination".

---

## BIBLIOGRAPHIA

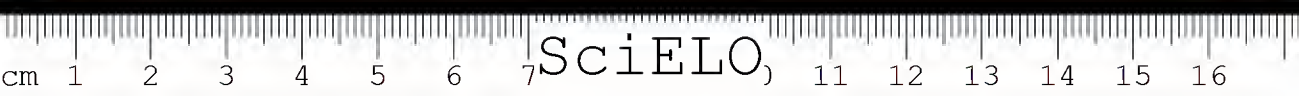
1. *Sarmo, E.* — C. R. Soc. Biologie CVI(5):382.1931.
2. *Ramon, G. & Descombey, P.* — C. R. Soc. Biologie XCIII:508.1925.
3. *Ramon, G.* — C. R. Soc. Biologie XCIII:506.1925 *et* C. R. Acad. Sciences CLXXXI: 157.1925.
4. *Correa, P.* — C. R. Soc. Biologie CIII:1042.1930.
5. *Glenny, A. T.* — Brit. Med. Journal II(3632):244.1930.
6. *Feierabend, B.* — Trav. Inst. Hyg. Publ. Ét. Tchécosl. I(4):115.1930.
7. *Glenny, A. T.; Pope, C. G.; Waddington, H. & Wallace, U.* — J. Path. & Bact XXIX:38.1926.
8. *Ramon, G. & Lemétayer, E.* — C. R. Soc. Biologie CIV(1):21.1931.
9. *Ramon, G. & Lemétayer, E.* — C. R. Soc. Biologie CVI(1):23.1931.
10. *Ramon, G. & Lemétayer, E.* — C. R. Soc. Biologie CVI(1):71.1931.
11. *Ramon, G.; Descombey, P. & Lemétayer, E.* — Ann. Inst. Pasteur XLVI(4):444.1931.
12. *Descombey, P.* — Ann. Inst. Pasteur XXXIX:485.1925.
13. *Glenny, A. T.; Pope, C. G.; Waddington, H. & Wallace, U.* — J. Path. & Bact. XXVIII:463.1925.
14. *Monteiro, J. L. & Fonseca, F. da* — Mem. Inst. Butantan VI:267.1931.
15. *Ramon, G.; Lemétayer, E. & Hamedy, A.* — C. R. Soc. Biologie CVI(13):1228.1931.

(Trabalho da Secção de Immunologia e Sorotherapia antitoxica do Instituto Butantan, terminado em dezembro de 1932).

# DO EMPREGO
# DO SORO VACCINICO NO TRATAMENTO DA COQUELUCHE

POR

J. LEMOS MONTEIRO E R. GODINHO


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16

616.204:614.4731

# DO EMPREGO DO SORO VACCINICO NO TRATAMENTO DA COQUELUCHE

POR

J. LEMOS MONTEIRO E R. GODINHO

---

## INTRODUCÇÃO

A' guisa de nota previa tivemos ensejo de levar ao conhecimento dos clinicos, por intermedio da "Semana de Laboratorio" reunida nesta capital em janeiro do corrente anno, sob os auspicios da "Sociedade de Medicina e Cirurgia de S. Paulo", alguns casos satisfactorios do emprego do soro de vitello vaccinado no tratamento da coqueluche (1). E, sem intuito de discutir o problema, ainda aberto, do combate a esta molestia, frizamos, então, ser consenso unanime que nenhum processo tem conseguido conquistar e manter, até aqui, logar de realce na therapeutica da coqueluche. Em verdade, do esperançoso recurso da bacterina de que universalmente se tem lançado mão volvem desilludidos todos aquelles que mais de perto enfrentam o grande problema. Proclamam o seu precario valor os pediatras de toda a parte e o testemunho de um dos expoentes da especialidade entre nós, ainda recentemente externando a sua descrença perante a Sociedade Brasileira de Pediatria (2), accentuou que "os resultados favoraveis poderão variar com a idade da creança, com o seu temperamento (neuropathia), com sua constituição (diathese exsudativa), com o ambiente onde vive, com o estado nutritivo no inicio da molestia, com os tratamentos collateraes simultaneamente usados (dietotherapia, hydrotherapia, psychotherapia, medicação symptomatica), com o genius epidemicus, com a vaccina usada (modo de preparação, numero e raça dos germes, vaccina pura ou mixta, technica de applicação, prazo e numero de injecções, etc.)". O seu bem documentado testemunho quanto ás restricções com que a bacterina tem sido acceita pela escola alemã não soffre contradicta nas opiniões dos especialistas norte-americanos, accordes em geral em assignalar o insuccesso que ella lhes tem proporcionado ainda quando oriunda dos mais acreditados estabelecimentos industriaes do país. Tanto assim é que nos ultimos surtos epidemicos ali verificados, o

emprego, por via rectal, do ether de mistura com o oleo de olivas teve melhor acceitação, embora como medicação não especifica, cujo uso se justificava pela simplicidade da applicação, até ser encontrada melhor forma de tratamento.

Na grande epidemia que sobreveiu na Argentina, em 1930, escassos resultados foram tambem obtidos com as differentes bacterinas, segundo depõe Reynaldo Agnello (3), do Hospital de Niños de Buenos Aires.

Algumas observações dignas de apreço foram assignaladas, nesse pais e na mesma epoca, por Generoso Schiavone (4), sobre a diminuição dos accessos e dos vomitos em grande numero de casos, depois de praticada nos doentinhos a vaccinação variolica, que o auctor applicara em virtude dos estudos de Martha Ehrlich na Polonia, sobre a influencia das infecções no tratamento da coqueluche.

## HISTORICO

Foi provavelmente induzido pela idéa antiga, consagrada pelo empirismo popular, de que o *vaccinado não tem coqueluche*, que Stern (5) realizou experiencias sobre o emprego de soro de vitello vaccinado, esperando encontrar nos anticorpos vaccinicos as substancias capazes de agir de maneira benefica sobre os elementos etio-pathogenicos da coqueluche. De accordo com o trabalho publicado por esse auctor, uma injecção de 20 c. c. de soro de vitello immunizado com a lympha vaccinica, faz passar o accesso, sendo, porém, util uma nova injecção 7 dias depois.

Procurando trazer uma confirmação ás observações de Stern, vimos preparando desde 1928 um soro para experimentação clinica, obtido de vitellos usados no serviço de vaccina animal deste Instituto e sangrados em certo periodo depois da colheita da polpa, dotado, portanto, de propriedades virucidas, conforme verificações feitas.

Esse soro antivaccinico foi experimentado, inicialmente, em casos de coqueluche commummente observados em creanças residentes em Butantan e seus arredores. Verificámos sua acção benefica, bastando, muitas vezes, *uma só injecção de 5 a 20 c. c., conforme a natureza do caso, dada por via intramuscular*, para determinar uma diminuição do numero dos accessos e mesmo seu desapparecimento e, como consequencia, uma melhora do estado geral do doentinho.

Posteriormente, o emprego deste soro foi ampliado, sendo empregado na clinica pediatrica do Posto de Hygiene de Butantan, então a cargo do dr. C. A. Espirito Santo, que poude reunir um certo numero de observações favoraveis; o soro foi igualmente fornecido a diversos especialistas da Capital e a varios collegas que nol-o têm solicitado. Desde então, o Hospital de Isolamento desta Capital vem tambem lançando mão deste recurso therapeutico, com resultados favoraveis na maioria dos casos, segundo depoimento de seu director, dr. J. A. Arantes.

O soro vaccinico foi igualmente empregado com resultado satisfactorio pelo dr. Sebastião Calazans, quando na direcção do Instituto de Hygiene de Pelotas. Rio Grande do Sul.

De nossa parte, temos á mão uma boa serie de observações em que o emprego do soro vaccinico tem produzido resultado evidente, muitas vezes heroico, no tratamento da coqueluche.

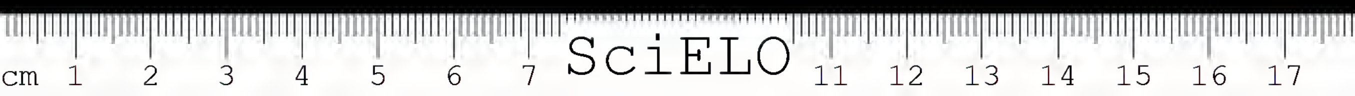
Recentemente, em agosto deste anno, tanto em Butantan, como nos seus arredores, surgiram varios casos, entre os alumnos do Grupo Escolar do Instituto, que, sem demora, nos foram encaminhados para as respectivas medidas de tratamento e de prophylaxia, no sentido de impedir a propagação da molestia entre as demais creanças do Grupo. Tratámos, ao mesmo tempo, de encaminhar para o nosso Posto Medico as demais pessoas das familias dos coqueluchosos arroladas na anamnese dos doentes e, deste modo, foi-nos possivel reunir mais um contingente de observações cuidadosamente acompanhadas em toda a sua evolução clinica.

Estudando as observações clinicas, conseguimos separal-as em dois grupos de accordo com o resultado do emprego do soro vaccinico, relacionado, indiscutivelmente, ao periodo evolutivo da molestia. Alguns dos casos apanhados ainda nos primeiros dias dos accessos typicos e submettidos ao tratamento pelo soro, chegaram a manifestar surprehendente defervescencia, em 24 horas, de todo aquelle quadro clinico, tão desagradavel para a creança, quão confrangedor para a familia e para o medico. Entretanto, quanto mais retardados eram trazidos á consulta — o que constituia, a despeito de tudo, regra quasi geral e inevitavel, tendo-se em conta o grão de precaria instrucção ainda reinante entre a população rural circumvizinha do Butantan — tanto menos se fazia sentir o effeito therapeutico do soro, embora em muitos casos ainda conseguisse elle modificar ou attenuar de certo modo os accessos. Em resumo, o novo contingente de observações vem reforçar a nossa convicção de que o soro vaccinico no tratamento da coqueluche é tanto mais efficiente quanto mais cedo fôr empregado.

## ACÇÃO THERAPEUTICA

Do ponto de vista immunologico é provavel que a acção do soro se manifeste mais promptamente nas creanças ainda não vaccinadas e que seja menos accentuada naquellas cuja vaccinação variolica seja relativamente recente. Este facto parece justificar a idéa antiga do dr. Mehnert (6), da Colonia do Cabo, que, já em 1911, recommendava a vaccinação variolica no tratamento da coqueluche, chegando mesmo a aconselhar que, salvo no caso de epidemia imminente de variola, se adiasse a vaccinação das creanças para o segundo anno de vida, quando são mais sujeitas á tosse convulsa; desse modo, a vaccinação poderia ter um duplo effeito benefico.





Sob o ponto de vista scientifico e no estado actual dos nossos conhecimentos sobre a etiopathogenia da coqueluche, difficil será encontrar uma explicação satisfactoria para o mecanismo da acção do soro na marcha da evolução desta infecção.

Não se trata apparentemente de uma proteinotherapia, pois neste caso o simples soro normal (como outras substancias proteinicas) produziria effeito, o que não acontece.

Será a sua acção devida aos anticorpos virucidas existentes no soro e que agiriam, neste caso, não especificamente sobre o agente infectuoso, mas sobre o epithelio affectado na arvore respiratoria, o qual tem a mesma origem embryonaria que os tecidos onde são talvez formados os anticorpos vaccinicos, estando a acção curativa ligada a uma verdadeira immunidade tecituaria? Esta hypothese, lembrada por A. do Amaral, e outras que poderiam ser aventadas não passam, porém, de conjecturas a suscitar demonstração positiva, que poderá ser tentada por um estudo mais aprofundado da acção cruzada no soro vaccinico nessa entidade morbida, comparativamente com o effeito do soro dos convalescentes e immunizados da coqueluche sobre o virus vaccinico. Isto seria tanto mais justificavel quanto ainda ha pouco a hypothese de ser a tosse convulsa devida a um virus filtravel parece ter recebido nova confirmação com os estudos de McCordock (7), que assignalou a presença de inclusões nucleares nas cellulas do epithelio pulmonar.

Qualquer que seja o resultado destas verificações, a nosso ver é indiscutivel, no tratamento da coqueluche, a acção favoravel do soro de vitello vaccinado, quando applicado logo no inicio da infecção e sempre antes de se manifestarem as conhecidas complicações, determinadas por associações microbianas diversas.

Por outro lado, mesmo que não désse resultado nitidamente favoravel, o soro vaccinico nenhum inconveniente acarretaria, porque, sendo de origem bovina, não sensibilizaria os individuos em relação a soros de origem equina (diphterico, tetanico e outros) que poderiam ser um dia administrados.

## OBSERVAÇÕES

GRUPO A. *Evolução clinica não excedente de 5 dias, a partir da data do apparecimento dos primeiros accessos.*

Obs. I. M. A. M., 13 annos, do Grupo Escolar do Butantan. Tomou em 18-VIII-932 10 c. c. de soro vaccinico. Diminuição gradativa dos accessos até o dia 25-VIII-932, quando lhe foi administrada nova dose de 10 c. c. que determinou a cura completa.

Obs. II. M. L., 7 annos, residente á rua Maria Cerqueira, do Grupo Escolar do Butantan. Encaminhado pela Directoria do Grupo Escolar ao Posto Medico do Instituto. Logo que foram notados os primeiros accessos tomou em 26-VIII-932 10 c.c. de soro. Curado. Tres irmãos deste doente só varios dias depois foram

trazidos ao Posto e tiveram a cura mais retardada, pelo que suas respectivas observações fazem parte do grupo B.

Obs. III. J. M.. 4 annos, morador do Instituto. Tomou 5 c. c. e 6 dias depois outra dose de 8 c. c.. Curado.

Obs. IV. J. B. T., 6 annos, morador do Instituto. Tomou 10 c. c. de soro. Curado.

Obs^s^. V, VI e VII. V. M., 2 annos, M. M., 12 annos e A. M., 1 anno (irmãos). Tomaram, respectivamente, 5, 8 e 3 c. c. de soro com resultado satisfactorio immediato.

Obs. VIII. J. M., 4 annos, residente em Rio Pequeno. Cura cimpleta e immediato desapparecimento das quintas com a administração de 10 c. c. de soro.

Obs. IX. M. C., 11 annos, residente em Rio Pequeno; do Grupo Escolar do Butantan. Injectada, em 3-IX-32, com 10 c. c. de soro. Curada.

Obs. X. J. M., 9 annos, residente á rua da Cotia; do Grupo Escolar do Butantan. Forma clinica de media intensidade. Tomou, em 3-IX-32, 10 c. c. de soro. Curada.

Obs. XI. I. I., 11 annos, residente em Pedreira; do Grupo Escolar do Butantan. Tomou 10 c. c. de soro em 3-IX-32. Cura completa.

Obs. XII. J. A., 6 annos, residente em Pinheiros. Tomou, em 21-IX-32, 8 c. c. de soro. Curado.

Obs. XII-A. M. L. R., 7 annos, residente em Paraiso. Recebeu uma injecção de 10 c.c. de soro e, 12 dias depois, outra de 10 c.c.. Cura immediata.

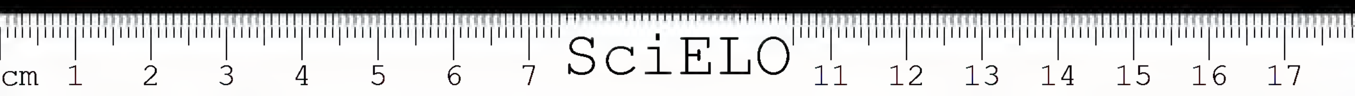
Obs. XII-B. M. H. R., 9 annos, residente em Paraiso. Recebeu uma injecção de 10 c.c. de soro e, 15 dias depois, outra de 10 c.c.. Cura rapida.

GRUPO B. *Evolução clinica de mais de 5 dias, a contar do apparecimento dos primeiros accessos de tosse convulsiva:*

Obs^s^. XIII, XIV e XV. Y. L., 9 meses. Y. L., 3 annos e C. L., 6 annos. irmãos e residentes á rua Maria Cerqueira. Todos doentes ha cerca de 20 dias. Tomaram, em 23-VIII-32, respectivamente, 5, 6, e 10 c. c. de soro. Pequena modificação do estado clinico geral. Em 3-IX-32 novas injecções das mesmas doses de soro. C. L. teve uma ligeira reacção serica com phenomenos de insufficiente eliminação renal, cedidos, todavia, com a administração de chloreto de calcio por via oral. Estas 3 creanças ainda tinham raros accessos 30 dias depois de administrada a ultima injecção.

Obs. XVI. C. M., 8 annos, do Grupo Escolar do Instituto. Quando veiu ao Posto já tinha um periodo de evolução da molestia de cerca de 30 dias. Tomou





10 c. c. de soro em 18-VIII-32. Em 25-VIII-32 mais 10 c. c.. Modificação quasi nulla do estado geral.

Obs[s]. XVII e XVIII. E. C., 6 annos, e Y. C., 3 annos, moradores de Butantan. Tomaram, respectivamente, 10 e 8 c. c. de soro em 27-IX-32. Curados embora lentamente.

Obs. XIX. C. R., 2 annos, residente em Villa Butantan. Tomou 5 c. c. em 26-IX-32. Resultado pouco satisfactorio.

Obs. XX. I. P. M., 7 annos, residente á rua Pirajussara, 10; do Grupo Escolar do Butantan. Tomou 10 c. c. de soro. Ligeira reacção serica. Curada depois de alguns dias, não obstante recusa dos pais em fazer 3.ª injecção.

Obs. XXI. G. S. M., 16 annos, residente á Avenida Vital Brazil. Doente ha 1 mês. Tomou, em 25-VIII-32, 10 c. c. de soro. Resultado pouco evidente nos primeiros oito dias. Nova injecção de 10 c. c. em 4-IX-32. Não tivemos mais informações desta doente.

Obs[s]. XXII a XXV. J. M. B., 8 annos, A. M. B., 6 annos, R. M. B., 4 annos e H. M. B., 3 annos, irmãos, residentes em Rio Pequeno. Todos em periodo de frequentes accessos de tosse convulsiva. Tomaram, respectivamente, 10 c.c. de soro os dois primeiros, 8 e 6 c. c. os dois ultimos. As mesmas doses foram repetidas 10 dias depois. Apenas o ultimo dos 4 doentes teve melhora rapida.

Obs. XXVI. N. R. S., 18 annos, residente em Belchior Pinto. Forma grave. Depois de duas injecções de soro franca atenuação dos accessos.

Obs. XXVII. T. S., 2 ½ annos, residente á Avenida Vital Brazil. Tinha tres irmãos ainda não contaminados. A nosso pedido informou a mãe da creança uma semana depois que o seu estado geral melhorou depois da injecção de 10 c.c. de soro e os demais irmãos continuam indemnes.

Obs. XXVIII. E. M., 7 annos, residente á Estrada do Butantan. Tomou em 23-IX-32 10 c. c. de soro e em 30-IX-32 mais 10 c. c.. Houve sensivel atenuação dos accessos.

Obs. XXIX. F. M., 2 annos, residente á Estrada de Butantan. Resultado do tratamento, com duas injecções de soro de 5 c. c. cada, identico ao da doente da obs. precedente, sua irmã.

Obs. XXX. A. N., 8 annos, residente á Avenida Vital Brazil; do Grupo Escolar do Butantan. Tomou em 5-IX-32 10 c. c. Desde 15 de outubro voltou a frequentar a escola sem ter mais accessos.

Obs. XXXI. R. A., 8 annos, residente em Rio Pequeno; do Grupo Escolar do Butantan. Tomou em 13-IX-32 10 c. c.. Nova injecção em 23-IX-32. Atenuação gradativa dos accessos, dos vomitos, etc. e, presentemente, curada.

Obs. XXXII. A. L., 8 annos, residente em Rio Pequeno; do Grupo Escolar do Butantan. Tomou 10 c. c. de soro em 10-IX-32. Resultado do tratamento bom, embora pouco lento.

Obs. XXXIII. J. A. C., 8 annos, residente em Estrada de Cotia; do Grupo Escolar do Butantan. Tomou em 12-IX-32 10 c. c. de soro. Examinado em começo de outubro ainda tinha alguns accessos de tosse. Mesmo sem uma segunda medicação desapparecem todas as manifestações da molestia antes do fim do mês citado.

## RESUMO ESTATISTICO

O estudo comparativo do resultado da applicação do soro vaccinico, nesses dois grupos de casos, leva-nos a tirar as seguintes conclusões:

1.ª Em 100 % dos casos recentes, a cura clinica foi rapida e, em sua quasi totalidade, immediata.

2.ª Entre os casos mais antigos, os resultados foram os seguintes:

a) em cerca de 14 %, a cura clinica foi rapida;
b) em cerca de 38 %, a cura clinica foi lenta;
c) em cerca de 19 %, a melhora foi lenta, mas indiscutivel;
d) em cerca de 29 %, não se pôde perceber melhora.

3.ª De um modo geral, entre os 35 casos até agora observados, houve cura em 25 (cerca de 70 %), melhora em 4 (cerca de 12 %) e effeito nullo em 6 (cerca de 18 %).

## ABSTRACT

The application of vaccinia serum (serum secured from calves immunized with vaccinia) in two groups of cases has yielded the following results:

1. In 100 % of the recent cases: clinic cure, rapid and nearly always immediate.

2. Among older cases: a) rapid clinic cure — 14 %; b) slow clinic cure — 38 %; c) slow but clear improvement — 19 %; d) no perceptible improvement — 29 %.

3. As a whole cure took place in about 70 % of the cases, improvement in 12 % and no effect in 18 %.

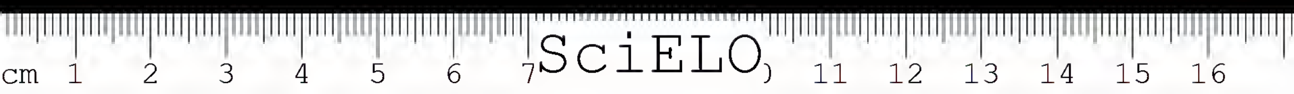
---

## BIBLIOGRAPHIA


1. *Monteiro, J. Lemos & Godinho, R.* — Do emprego do soro vaccinico no tratamento da coqueluche — Com. Soc. Med. Cir. Janeiro, 1392 ; Medicina Pratica II(1) :9.1932.
2. *Rocha, M.* — Meu ponto de vista sobre a vaccinotherapia da coqueluche-Brasil Medico XLV(50) :1162.1931.
3. *Agnello, R.* — Resumen del tratamiento de la epidemia de coqueluche de 1930 — La Semana Medica XXXVIII(14) :905.1931.
4. *Schiavone, G.* — La vaccinacion antivariolica en el tratamiento de la coqueluche — La Semana Medica XXXVII(49) :1723..1930.
5. *Stern, G.* — Keuchhustenserum — Deut. Med. Woch. XLVII(19) :557.1921.
6. *Mehnert* — La coqueluche des nourrissons guérie par la vaccination — Rev. Intern. de la Vaccine II(4bis) :394.1912.
7. *McCordock, H. A.* — Intranuclear inclusions in Pertussis — Proc. Soc. Exper. Biol & Med. XXIX(9) :1288.1932.


**(Trabalho da Secção de Virus e Virustherapia do Instituto Butantan, novembro de 1932).**



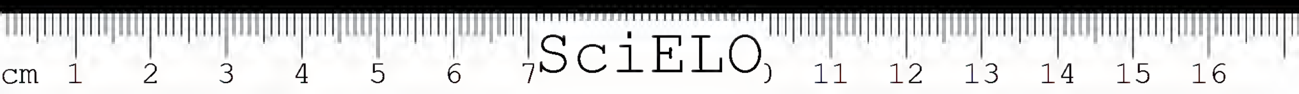


# SOBRE A DURAÇÃO DA ACTIVIDADE DAS ANTITOXINAS E ANTIVENENOS

POR

AFRANIO DO AMARAL, J. BERNARDINO ARANTES
E FLAVIO DA FONSECA

---


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16

612.398.8 : 612.314.51

# SOBRE A DURAÇÃO DA ACTIVIDADE DAS ANTITOXINAS E ANTIVENENOS

POR

AFRANIO DO AMARAL. J. BERNARDINO ARANTES
E FLAVIO DA FONSECA

---

## INTRODUCÇÃO

Um dos aspectos mais interessantes e de maior relevancia scientifica e economica na pratica sorotherapica é, sem duvida, o que concerne á duração da actividade especifica dos soros, especialmente daquelles cuja aferição pode ser feita com bastante rigor, isto é, os antitoxicos (antitoxinas) e os antipeçonhentos (antivenenos). O interesse dessa questão reside na attitude diametralmente opposta, assumida aprioristicamente, de um lado, pelos clinicos e, do outro, pelos immunologos, acreditando em geral os primeiros que, para ter effeito curativo, um soro deve ser recente, enquanto os segundos eram levados, pelas noções geraes sobre o comportamento das proteinas, a acreditar na possibilidade de conservação da actividade therapeutica de tal producto por periodos relativamente dilatados. Todavia, guiados pela prudencia que sempre tem orientado o preparo e applicação de todas as substancias biologicas, os sorologistas acharam, desde o começo, preferivel restringir a um prazo relativamente curto as indicações referentes á conservação da especificidade das antitoxinas e antivenenos entregues ao consumo.

Infelizmente, essa attitude de prudencia dos technicos, justificada pela necessidade de uma observação mais demorada desse importante aspecto da sorotherapia, foi sempre mal comprehendida pelos clinicos e pelos pharmaceuticos, os quaes ainda agora costumam exaggerar a sua repulsa ao emprego de soros menos recentes sob a vaga allegação de inactividade. Conforme veremos adiante, essa repulsa que aos laboratorios productores causa transtornos formidaveis e avultadas perdas, não se justifica nem mesmo do ponto de vista immunologico, dahi promanando o proprio interesse scientifico e economico do problema. Si é bem verdade que a era sorotherapica foi iniciada ha pouco mais de 40 annos, não é

menos certo que, si houvessem desde cedo comprehendido o enorme alcance da exacta determinação da duração da actividade dos soros therapeuticos, os especialistas teriam provavelmente procurado ha mais tempo coordenar esforços no intuito de elucidar as classes medica e pharmaceutica, sobre a conveniencia de, em certos casos, preferirem até productos antigos a outros de recente preparação.

Effectivamente, é curioso que, apezar de se haver publicado mais de uma dezena de memorias technicas sobre o assumpto, todas concordes na demonstração da perduradoura especificidade dos soros, ainda hoje os proprios medicos se recusem a lançar mão de productos menos recentes. Que os collegas não têm razão nesse modo de ver é facil demonstrar por uma analyse da literatura scientifica, que poude ser agora vantajosamente completada pelo redoseamento, por nós effectuado, de antitoxinas e antivenenos de preparação bastante antiga e conservados, em condições sem duvida desvantajosas, em mão dos consumidores.

## RESENHA BIBLIOGRAPHICA

### A — Antitoxinas

1. A primeira referencia, existente na literatura sobre a conservação da actividade das antitoxinas, parece ser a nota publicada em janeiro de 1902 pelo Ministerio do Interior da França, com a informação de que "o soro antidiphterico não perde suas propriedades curativas pela conservação *mesmo durante um anno*".

2. Em editorial publicado em maio de 1904, o Journal of the Royal Army Medical Corps vehiculou a informação de que "o soro antidiphterico conservado, tanto na Inglaterra, como na India, *por mais de um anno,* revela alguma perda mas insufficiente para contraindicar sua utilização".

3. Em 1905, Miller (1) examinou 82 partidas de soro antidiphterico e redoseou-as pelo methodo de Ehrlich, repetindo, assim, a technica que havia sido empregada na determinação original. Verificou que apenas em 25 partidas, portanto em cerca de 30 %, tinha havido alguma perda do poder antitoxico. Levando em consideração que, no preparo das partidas, o laboratorio concedera uma margem de 6 a 25 % a mais da actividade marcada, verificou este pesquisador que, *ao cabo de 2 a 3 annos*, a potencia era mais ou menos igual á indicada no rotulo das empolas, tirando de seu estudo as seguintes conclusões:

a) o soro antidiphterico perde sua actividade aos poucos, os mais fortes um pouco mais rapidamente, mas nunca tão depressa quanto se suppõe;

b) a indicação da actividade nas empolas, desde que inclua a margem dada pelo laboratorio, garante a conservação do poder exacto por muitos annos;

c) a procura do soro fresco não se justifica, porquanto um soro velho pode apresentar ainda uma potencia exacta, sendo portanto utilizavel até que se obtenha outro.

4. Em 1907, Kinyoun e Hitchens (2) examinaram 100 partidas differentes de soro antidiphterico, devolvidas ao laboratorio depois de terem estado no commercio de 13 a 27 meses, tendo observado uma perda de 0 a 48,6 % na actividade das mesmas. Verificaram ainda que a perda maior da actividade occorria nos soros que haviam sido *concentrados por simples evaporação*, devendo-se a proposito notar que naquelle tempo ainda não se empregava communmente, nem mesmo nos Estados Unidos, o methodo de concentração por precipitação fraccionada das globulinas. De seu estudo, esses auctores concluiram naquella occasião o seguinte: a depreciação (inactivação) é um factor variavel, independente do tempo durante o qual um soro esteve exposto á venda; a perda media de 25 %, correspondente a um periodo de 12 a 15 meses, deve ser coberta por uma margem de 24 % para cada anno.

5. Em 1910, Anderson (3), trabalhando no Laboratorio de Hygiene de Washington com 18 amostras de antitoxina diphterica que haviam sido conservadas em differentes temperaturas e por periodos variaveis de 1 a 3 annos, verificou que:

a) a antitoxina, conservada em geladeira a cerca de 5°C, perde em media 6 % de seu poder por anno;

b) conservada a 15°C, sua perda é de cerca de 10 % por anno e de 36 % ao cabo de 3 annos;

c) mantida em temperatura ambiente, variavel entre cerca de 21°C no inverno e 37°C no verão, a antitoxina soffre uma inactivação media de 20 % ao anno e de 59 % em 3 annos, o que mostra a conveniencia de se manterem os soros em temperatura relativamente baixa.

6. Em 1912, MacConkey (4), desejando verificar o effeito exercido, sobre a actividade do soro antidiphterico, por temperatura proxima da do corpo humano, tratou de estudar comparativamente a influencia de differentes modos de distribuição e conserva sobre o poder antitoxico de 3 partidas, tendo concluido que:

a) distribuido em empolas e mantido a 36°C, o soro perde cerca de 36 % de sua actividade em 6 meses e de 49 % em um anno;

b) conservado em recipientes maiores (frascos de 250 cc.) na temperatura de 36°C, sua inactivação attinge 60 % ao cabo de 6 mezes;

c) sua conservação sob uma camada de parafina não reduz a perda;

d) conservado em empolas, o soro perde actividade a 36°C cerca de 6 vezes mais depressa do que na temperatura da geladeira.

7. Em fim de 1916, este mesmo auctor (5) completou um trabalho de redoseamento de varias qualidades de soros e especialmente do antidiphterico, cuja inactivação estudou em 31 amostras que haviam sido conservadas sem maiores cuidados. Sua conclusão final foi que "os soros mantêm sua especifidade por um periodo muito mais longo do que se acredita" e que a antitoxina diphterica perde em media 23 % de seu poder no periodo maximo de verificação, correspondente a 4 annos e meio.

8. Em 1916, Brazil (6), baseado em observação que fizera em 1896 na Hospedaria de Immigrantes em S. Paulo, por occasião de um surto de diphteria então registado e que cedera facilmente ao emprego de soro especifico comprado no mercado e de preparação muito antiga, publicou uma monographia, em cuja primeira parte referiu os resultados da redeterminação de actividade feita em amostras de 10 partidas de antitoxina diphterica.

As conclusões dessa parte do trabalho são as seguintes:

"Esta verificação de dosagem feita em ampoulas de differentes partidas de sôro devolvidas ao Instituto, depois de um periodo de 4 a 7 annos, de enfrascamento, nos prova á saciedade quão exagerada é a ideia predominante sobre a alterabilidade do poder anti-toxico dos sôros therapeuticos. Vemos, com effeito, que o sôro anti-diphterico conservou de modo perfeito o seu valor anti-toxico dentro do praso de 5 annos de entregue ao consumo. Os sôros de seis a 7 annos perderam no maximo 13 %, perda essa insignificante que não autorisa a rejeição do producto. Devemos ainda salientar que em relação aos sôros examinados, é razoavel suppor que nem todos tivessem sido conservados em excellentes condições".

"Por todas as razões expostas verificamos que não ha motivo algum justificavel para a rejeição dos sôros antigos. Ao contrario, em igualdade de circumstancias, dando-se uma margem á pequena perda possivel do valor antitoxico, é preferivel o emprego do sôro velho. Guiado por orientação contraria, poderá o clinico ser levado a preferir um sôro baixo de 200 unidades, por exemplo, de recente preparo, a um outro de 800 ou 1.000 unidades, de preparo antigo. O erro entretanto é palpavel, como passamos a demonstrar. Emquanto que do primeiro serão precisos pelo menos de 30 a 40 centimetros cubicos para ter-se de 6.000 a 8.000 unidades exigidas para o tratamento de um caso de diphteria de media intensidade, do segundo, admittindo-se uma perda de 20 % serão necessarios, no maximo, apenas 15 centimetros para obter-se o mesmo numero de unidades. O criterio que deve orientar o clinico no emprego dos sôros anti-toxicos é a indicação da dosagem e a applicação de um certo numero de unidades de accôrdo com a gravidade do caso e a edade do paciente."

## B — Antivenenos

1. Em 1907, Calmette (7) mostrou que a redeterminação de actividade de empolas de soro antivenenoso, devolvidas, ao cabo de 1 ½ e 2 annos, da India e

da Indochina, no decurso de seus trabalhos fundamentaes sobre a sorotherapia anti-ophidica, revelara o seguinte: "seu titulo não havia baixado sensivelmente. O aspecto do liquido que ellas continham havia-se modificado apenas um pouco: este estava descorado e em seu seio fluctuavam pequenos flocos brancos. Estes flocos não indicam alteração: são constituidos por deposito de albumina precipitada".

2. Em 1917, Brazil (6), na segunda parte de sua citada monographia, publicou os protocollos de redeterminação do poder neutralizante de 4 partidas de soro anti-crotalico e 7 partidas de soro anti-ophidico (anti-crotalico e anti-bothropico), depois de um prazo variavel entre 26 e 47 meses de seu empolamento.

Eis suas conclusões no particular:

"Os sôros anti-peçonhentos perdem muito mais do seu valor anti-toxico, do que o sôro anti-diphterico, sendo de notar que sua perda foi extremamente variavel, ficando subordinada ao limite maximo de 33 %, o que se verificou uma unica vez. Uma das causas dessa variação é o modo tão vario pelo qual é conservado o sôro. Este é enviado, com effeito, para as fazendas, onde algumas vezes é tratado com o necessario carinho, sendo guardado em lugar fresco e ao abrigo da luz. Na generalidade dos casos, porém, é atirado para cima de um movel qualquer, exposto á acção da luz e do calor, e, nestas condições resiste muito menos do que quando é mantido com os necessarios cuidados. De um modo geral, póde-se admittir uma perda de 30 % em tres annos, o que não representa grande cousa, tratando-se de sôros muito anti-toxicos. E' aconselhavel, quando se tenha de empregar um sôro antigo, injectar-se uma dose de 30 % mais forte do que a do sôro de recente fabricação. Esta pratica é muito mais razoavel do que substituição constante de provisão.

E' um facto geralmente admittido que os sôros depois de um certo tempo de enfrascamento, são menos toxicos do que os sôros muito recentes, o que levou alguns laboratorios a deixarem envelhecer os sôros antes de entregal-os ao consumo.

O Instituto Pasteur de Paris, adoptou de ha muito tempo, essa pratica, no laboratorio, antes de serem expedidos."

"Depois de algum tempo de enfrascamento dos sôros, forma-se um precipitado, que pelo repouso se deposita no fundo do frasco ou ampoula. Agitado turva-se, tomando uma apparencia desagradavel. Este precipitado não indica uma alteração do producto, nem accarreta a substancia anti-toxica, que permanece no liquido. Este pelo repouso ficará limpido e poderá ser aspirado cautelosamente, afim de ser injectado sem a substancia precipitada."

3. Em 1921, Houssay e Negrette (8), pesquisando o poder neutralizante em amostras de 7 partidas de soro anti-ophidico devolvidas do interior e que haviam sido conservadas durante 13 a 23 meses provavelmente sem precauções especiaes, verificaram tambem que a inactivação dos antivenenos se processa lentamente.

Observaram, porém, que sua perda havia sido proporcionalmente maior do que a registada por Brazil no trabalho citado no paragrapho anterior. Essa differença aquelles auctores a attribuiram á circunstancia de haverem trabalhado com antivenenos de valor antitoxico inicial mais elevado. Todavia, uma analyse dos protocollos publicados revela que, em relação ao poder anti-bothropico, a comparação feita pelos dois auctores argentinos entre os seus resultados e os de Brazil não é cabivel, pelo facto de Brazil haver usado o veneno de *Bothrops jararaca* para determinação do valor anti-bothropico, ao passo que Houssay e Negrette usaram para esse fim o veneno de *Bothrops alternata*.

Suas conclusões são as seguintes:

"Apezar de reputarmos as perdas reaes mais elevadas do que as calculadas por Brazil, que notou ser o soro antiophidico um dos que mais se alteram, todavia estamos de accordo com elle em que os soros ainda são activos depois de muito tempo. Praticamente e na falta de soro fresco não se deve vacillar em empregar um soro velho, o qual quasi seguramente produzirá effeito.

Como corollario do que verificámos resulta que, si os soros fortes têm muita acção e pequeno volume, o que é de grande vantagem, no entanto se inactivam mais rapidamente do que os fracos, não sendo, pois, os mais economicos".

4. Em 1922, Phisalix (9), em seu conhecido trabalho sobre animaes venenosos, dedicou apenas poucas palavras ao soro anti-venenoso, limitando-se visivelmente a reproduzir a informação já antiquada de Calmette. Disse ella textualmente: "Este soro conserva durante cerca de 2 annos seu valor anti-toxico em todos os climas; depois esse valor decresce pouco a pouco."

5. Em 1925, Anderson e Caius (10) examinaram soros antivenenosos (anti-cobraico e anti-viperico) preparados no Instituto Central de Pesquisas de Kasauli, distribuidos em empolas de 40 cc. devolvidas ao laboratorio em prazos de 3, 6, 9 e 12 meses depois de terem sido conservados nas seguintes condições:

a) mantidas em um armario e protegidas pelo seu involucro natural, sem qualquer precaução contra a luz;

b) mantidas do lado de fora sem involucro e expostas á luz directa;

c) mantidas em uma caixa fechada, dentro de geladeira e de todo protegidas contra a luz;

d) mantidas na geladeira sem qualquer involucro e sem protecção contra a luz;

e) mantidas em mesa do escriptorio sem qualquer involucro e expostas á luz e á temperatura ambientes.

As conclusões de seu importante trabalho são as seguintes, em relação ao poder neutralizante para com o veneno de cobra de capello (*Naja naja*):

a) o antiveneno, á semelhança de todos os outros soros, perde gradualmente actividade durante os primeiros 6 a 9 meses de sua conservação;

b) em seguida a essa perda inicial, surge de subito um reforço de actividade que chega a ultrapassar o limite apresentado originalmente pelo producto; isto occorre dentro dum periodo de 12 a 14 meses após o empolamento;

c) esse ganho da actividade não é devido ás particulas que geralmente se depositam por meio da centrifugação;

d) a luz e o calor existentes ordinariamente nos tropicos (dentro de casa) não exercem influencia apreciavel sobre a potencia do antiveneno.

6. Em 1927, Pawlowsky (11), em sua compilação sobre o mesmo assumpto, seguiu os passos de Phisalix e Calmette, dizendo que o soro antivenenoso "não perde sua actividade especifica no decurso de cerca de 2 annos".

7. Em 1931, Maitra e Ahuja (12), tendo encontrado, no Instituto de Kasauli, 19 amostras de antiveneno indiano de 2 ½ a 9 annos de preparo, trataram de verificar si as mesmas ainda possuiam poder neutralizante em relação ao veneno da cobra de capello. Eis textualmente a conclusão a que chegaram: "cerca de 50% das amostras retiveram sua actividade original muito tempo depois do limite admittido para sua applicação therapeutica que é de 2 annos a contar da data do preparo. Cerca de 50% das amostras se haviam enfraquecido mas ainda mantinham perto de metade do poder antitoxico inicial, o que demonstra ser apenas quantitativa a deterioração produzida por uma conserva prolongada; o soro antivenenoso, como o anti-diphterico, mantém sua especificidade, ou, por outra, é ainda capaz de neutralizar *in vitro* o veneno da cobra durante um prazo muito mais longo do que o admittido actualmente."

### C — Conclusão geral bibliographica

Do estudo da literatura existente sobre o assumpto se podem, portanto, tirar, parcialmente, varias conclusões, a saber:

a) Embora haja no pormenor alguma discordancia entre os trabalhos dos varios auctores, se tem verificado em geral que o soro antidiphterico pode ser conservado sem precauções especiaes durante um periodo relativamente dilatado, porquanto a maior perda verificada, no periodo maximo de 7 annos até agora observado, não é sufficiente para contraindicar o emprego do producto;

b) em igualdade de condições, os antivenenos, mesmo depois do periodo maximo de observação, até agora assignalado, de 9 annos após o preparo, ainda conservam bastante actividade para se justificar sua utilização para fins curativos;

c) a inactivação encontrada nas antitoxinas e antivenenos estudados está sujeita a certas variações, observaveis de partida a partida; ella independe do maior ou menor prazo de exposição, mas se processa sempre mais lentamente na geladeira do que na temperatura ambiente.

## CONTRIBUIÇÃO ACTUAL

Pelo exposto no capitulo anterior se deduz que o estudo da conservação do poder neutralizante das antitoxinas e antivenenos tem sido feito até agora em partidas não concentradas e cujo preparo datava no maximo, respectivamente, de 7 a 9 annos. Seria, pois, interessante verificarmos si a exposição de taes productos, durante periodos mais dilatados, á temperatura ambiente, ou o facto de terem sido concentrados por precipitação fraccionada, poderia contribuir para seu maior ou mais rapido enfraquecimento. Essa pesquisa afigurava-se tanto mais importante, quanto o Instituto Butantan estava, no particular, em situação especial para favorecer essa verificação e isto pelas seguintes razões:

1.ª) ha mais de 20 annos este Instituto se dedica ao preparo simultaneo de antivenenos e antitoxinas alem de outros productos biologicos;

2.ª) ha perto de 15 annos vem produzindo antitoxinas e antivenenos concentrados, tendo portanto acompanhado os laboratorios norte-americanos e precedido os institutos europeus e outros na pratica da refinação dos plasmas por precipitação fraccionada das globulinas;

3.ª) ha quasi 20 annos vem recebendo empolas de soros antitoxicos e antipeçonhentos, devolvidas das fazendas do interior, onde são conservadas sem maiores precauções e depois de haver decorrido muitos annos de sua distribuição.

Para esse fim, tratámos, preliminarmente, de aproveitar amostras de soros muito antigos, alguns com cerca de 25 annos de preparo, procurando verificar até que ponto havia chegado sua inactivação. As partidas examinadas correspondiam, de um lado, aos seguintes productos:

a. Antitoxina diphterica
b. " tetanica
c. Antiveneno crotalico
d. " bothropico
e. " ophidico.

Doutro lado, ellas eram representadas, em parte, por soro obtido por sangria directa de cavallos immunizados e, em parte, por pseudo-globulina oriunda da precipitação fraccionada do plasma correspondente.

a) *Verificações sobre a antitoxina diphterica*

Já havendo, conforme indicámos acima, outros auctores estudado a actividade de soros antidiphtericos de até 7 annos de preparo, procurámos fazer as nossas determinações em partidas mais antigas. Para esse fim, aproveitámos empolas de partidas cuja distribuição datava de perto de 7 a 20 annos (entre 1925 e 1912), havendo, pois, ultrapassado de até 4 vezes o prazo maximo concedido antigamente pelo Instituto para sua utilização therapeutica.

Outrosim, limitámo-nos em nossas pesquisas a verificar si as varias partidas de soros antidiphtericos antigos de que dispunhamos ainda retinham 50% de seu poder antitoxico inicial e isto porque nos pareceu, *a priori* e à luz da bibliographia, que a inactivação raramente chegaria a ultrapassar metade da potencia primitiva.

*Technica* — Na aferição do poder neutralizante empregámos o methodo classico de Ehrlich, usando antitoxina padrão fornecida pelo Laboratorio de Hygiene de Washington e fazendo a inoculação das misturas em cobaias de 250 grs. de peso medio. E' bem verdade que, ha cerca de 20 annos, o Instituto, baseado aliás em observação de Ehrlich, vem empregando, na determinação do poder neutralizante da antitoxina diphterica, pombos adultos com peso medio de 300 grs., inoculando-os com as misturas por via intra-muscular na região peitoral, em vez de cobaias, por via subcutanea e aferindo, de tempos a tempos, em cobaias de peso padrão, os resultados observados em pombos (13). O volume da mistura inoculada nos pombos é tambem de 4 cc. e, pois, igual ao que se emprega nas cobaias segundo o methodo de Ehrlich, consistindo a unica differença nestes dois processos em pequena alteração do limite de morte (L+) da toxina, o qual, em via de regra, é para os pombos cerca de 0,01 cc. maior do que para as cobaias.

Nas determinações feitas, resolvémos preliminarmente verificar si a actividade da antitoxina contida em varias empolas numa mesma partida não apresentava oscillação, tendo concluido, conforme se vê no protocollo abaixo, que essa oscillação não occorre.

Em seguida, tratámos de tirar a limpo si o precipitado que, por decantação, se forma no interior das empolas e que é constituido por pseudo-globulina, poderia exercer qualquer influencia sobre o resultado do redoseamento. Para esse fim, o conteudo de cada empola foi separado em duas porções: uma, inteiramente limpida e obtida por centrifugação do liquido; outra, representada pelo liquido em estado natural, sem previa centrifugação.

Os resultados de nossas determinações acham-se indicados no quadro I.

QUADRO I

REDOSEAMENTO DE ANTITOXINAS DIPHTERICAS ANTIGAS

| Partida | Qualidade | Distribuição | Porção | Potencia primitiva | Potencia presente | Perda | pH actual (*) | Notas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 26 | não concentrada | 26.III.1912 | centrifugada | 200 u. a. | > 100 u. a. | — 50 % | 7.90 | Empola I |
| " | — | — | " | — | " " | " | | " II |
| " | — | — | " | — | " " | " | | " III |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | | " I |
| " | — | — | " " | — | " " | " | | " II |
| " | — | — | " " | — | " " | " | | " III |
| 27 | " | 22.VI.1912 | centrifugada | 350 " | > 175 " | — 50 % | 7.21 | — |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | | — |
| 41 | " | 18.XI.1913 | centrifugada | 400 " | 200 " | — 50 % | 7.40 | — |
| " | — | — | com precipitado | — | < 200 " | + 50 % | | A cobaia morreu antes do prazo |
| 45 | " | 27.III.1914 | centrifugada | 250 " | > 125 " | — 50 % | 7.51 | — |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | | — |
| 61 | " | 8.VII.1915 | centrifugada | 350 " | > 175 " | " | 7.23 | — |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | | — |
| 69 | " | 25.XI.1915 | centrifugada | 400 " | > 200 " | " | — | — |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | — | — |
| 71 | " | 14.III.1916 | centrifugada | 650 " | 325 " | 50 % | 8.06 | A cobaia morreu antes do prazo |
| " | — | — | com precipitado | — | < 325 " | + 50 % | | |
| 88 | " | 3.X.1916 | centrifugada | 350 " | < 175 " | + 50 % | 7.31 | — |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | | — |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 106 | " | 24.VIII.1917 | centrifugada | 1800 " | > 900 " | — 50 % | 6.07 | — |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | | — |
| 257 | concentrada | 28.IV.1921 | centrifugada | 300 " | < 150 " | + 50 % | 5.10 | Preparado de englobulina |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | | |
| 262 | " | 5.VII.1921 | centrifugada | 300 " | > 150 " | — 50 % | 5.66 | " " |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | | — |
| 302 | " | 25.VIII.1922 | centrifugada | 400 " | < 200 " | + 50 % | 5.47 | — |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | | A cobaia morreu antes do prazo |
| 303 | " | 28.VIII.1922 | centrifugada | 300 " | > 150 " | — 50 % | 6.41 | " " |
| " | — | — | com precipitado | — | " " | " | | — |
| 362 | " | 19.XII.1925 | centrifugada | 2000 " | > 1000 " | — 50 % | 6.40 | — |
| " | — | — | com precipitado | — | < 1000 " | + 50 % | | A cobaia morreu antes do prazo |

(*) Tendo verificado que o pH das partidas, concentradas no periodo anterior ao seu, era muito baixo (acidez nitida), a actual directoria, ao reorganizar os serviços de concentração de plasmas, estabeleceu que nenhuma partida deveria ser exposta ao consumo sinão com o pH 7.30, determinado pelo potenciometro.

*Conclusões* — O redoseamento de antitoxinas diphtericas antigas, entregues ao consumo entre cerca de 9 e 20 annos passados e devolvidas por suspeita de inactividade, revelou que:

1.º — em diversas empolas de uma mesma partida não havia variação da porcentagem da perda do poder antitoxico:

2.º — em cerca de 62% das partidas, essa perda não tinha siquer chegado a 50%, havendo attingido ou ultrapassado esse limite em apenas 38% dos casos;

3.º — parece não haver perda progressiva do poder antitoxico em resultado do envelhecimento; a inactivação occorre apparentemente nos primeiros tempos, ficando depois o producto mais ou menos estabilizado;

4.º — o precipitado que se forma no seio do soro não exerce influencia alguma, ou pelo menos apreciavel, sobre o poder antitoxico do mesmo;

5.º — a concentração parece não exercer influencia sobre a duração da actividade.

b) *Verificações sobre a antitoxina tetanica*

No decurso de nossas pesquisas sobre a inactivação da antitoxina diphterica pelo envelhecimento, verificámos que o precipitado que se forma nas empolas é inteiramente inerte, não exercendo, pois, qualquer influencia sobre a actividade do producto. Por essa razão, resolvémos, de referencia á antitoxina tetanica, fazer apenas o redoseamento do liquido tal qual se encontra nas empolas.

Guiados igualmente pelas indicações do comportamento da antitoxina diphterica, fizemos com a tetanica apenas o redoseamento do poder antitoxico em relação a 40%, 50% e 80%, respectivamente, da actividade primitiva das partidas.

Nossos estudos no particular versaram sobre 7 amostras de antitoxina tetanica entregues ao consumo entre 1915 e 1926, tendo, portanto, envelhecido cerca de 5 a 16 annos.

*Technica* — Na aferição do poder neutralizante empregámos o methodo norte-americano, estabelecido por Anderson e Rosenau, utilizando-nos de toxina e antitoxina padrões fornecidas pelo Laboratorio de Hygiene de Washington. Cumpre-nos assignalar, a proposito, que esse processo tem sido o unico adoptado em Butantan desde que foi aqui iniciado o preparo do soro antitetanico e que não seguimos o novo padrão, ultimamente estabelecido pelo Comité de Hygiene das Nações e chamado de europeu ou mesmo internacional, cuja unidade é realmente metade mais fraca do que a americana.

Os resultados de nossas verificações sobre a perda da actividade da toxina tetanica estão condensados no quadro II.

QUADRO II

REDOSEAMENTO DE ANTITOXINAS TETANICAS ANTIGAS

| Partida | Qualidade | Distribuição | Potencia | | Perda | pH actual |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | primitiva | presente | | |
| 9 | não concentrada | 20-IX-1915 | 1000 u. a. | 400 u. a. | 60 % | — |
| 25 | " " | 16-IV-1917 | 500 " | 300 " | 40 % | 5.60 |
| 34 | concentrada | 11-II-1918 | 2000 " | 800 " | 60 % | — |
| 35 | " | 27-II-1918 | 2000 " | 1000 " | 50 % | — |
| 76 | " | 20-IX-1923 | 300 " | 200 " | 33 % | — |
| 79 | " | 19-X-1923 | 400 " | 200 " | 50 % | 5.45 |
| 123 | " | 24-IV-1926 | 300 " | 150 " | 50 % | 4.80 |

## *Conclusões*

O redoseamento de antitoxinas tetanicas, entregues ao consumo ha cerca de 6 a 15 annos e devolvidas por suspeita de inactividade, revelou que:

1.° — a perda do poder antitoxico attingiu apenas 33 a 40% em 2 das 7 partidas examinadas, 50% em 3 outras, não ultrapassando 60% nas 2 restantes;

2.° — a inactivação não depende do tempo de envelhecimento, pois ella occorre nos primeiros annos, ficando depois a antitoxina mais ou menos estabilizada;

3.° — a concentração não exerce influencia apreciavel sobre a duração da actividade.

c-e) *Verificações sobre os antivenenos: crotalico, bothropico e ophidico*

Para o exame da inactivação dos antivenenos (soros antipeçonhentos) lançâmos mão de empolas correspondentes a 51 partidas distribuidas entre 1907 e 1925, cujo envelhecimento havia attingido entre 6 e 25 annos, ficando, dess'arte, grandemente ampliadas as observações feitas a esse proposito por outros investigadores.

*Technica.* — Na determinação da actividade dos antivenenos, os laboratorios têm usado varios processos, baseados em principios os mais dispares, o que é talvez devido á enorme differença observada, entre as especies de serpentes, nos com-

plexos principios toxicos e antigenicos dos respectivos venenos. Encarados em conjuncto, os principaes processos podem ser discriminados em: *in vitro*, *in vivo* e mixtos.

O mais importante dos processos de determinação *in vitro* é o de Calmette e Massol (14), baseado no poder precipitante do soro anti-cobraico em relação á peçonha. Este processo é sujeito a resultados desencontrados, pelo que pouco tem sido utilizado.

O principal methodo *in vivo*, aliás baseado em idea de Lamb (15), é o de Calmette (16), que consiste na determinação do poder preventivo exercido, sobre coelhos de 2 kilos, pelo antiveneno especifico, em relação a 1 mgr. do veneno da cobra de capello, injectado por via subcutanea 2 horas mais tarde. Esse processo não tem sido adoptado geralmente em relação a outros antivenenos, porque apresenta grandes variações, alem de o poder preventivo nem sempre ser um bom indice da actividade curativa.

O typo da technica mixta é a de Brazil (17), empregada ha mais de 25 annos em Butantan e seguida neste trabalho. Consiste em: diluir com agua physiologica, em tubos separados, quantidades variaveis de veneno, até completar 1 cc.; juntar em cada tubo 1 cc. do soro a determinar e incubar a mistura a 37°C durante 30 minutos a 60 minutos; injectar então cada dose na veia axillar de um pombo (300 grs. de peso medio), sendo o resultado indicado pela sobrevivencia do animal. Desconhecendo provavelmente esses trabalhos feitos e publicados no Brasil, Anderson (18), em data recente, acaba de descrever e Maitra e Mallick, de adoptar (19), como sendo original, esse mesmo methodo no estalonamento de antiveneno anti-viperico da India.

E' bem verdade que Acton e Knowles (20), baseados em que a neutralização do veneno por meio de mistura *in vitro* com o antiveneno correspondente, seguida de sua inoculação intra-venosa em pequenos animaes de laboratorio (coelhos no caso em apreço), está longe de indicar a potencia real de tal soro sob as condições verificadas nas picadas, lembraram a conveniencia de fazerem-se taes determinações em especies mais affins do homem, pelo que resolveram mais tarde (21) fazer a verificação do poder curativo do antiveneno em macacos, primeiro inoculados, por via hypodermica, com a peçonha em estudo.

Outrosim, não é menos certo que, continuando o trabalho por um de nós (A. do A.) iniciado no Antivenin Institute of America, Githens e Butz (22) verificaram que certos venenos contêm, alem de seus principios toxicos siderantes, outras substancias dotadas do poder de fixar os anticorpos, embora incapazes de matar os pombos rapidamente. Dessa verificação decorreria, no opinar destes investigadores, a necessidade de se usar, na aferição dos antivenenos, de preferencia um methodo de leitura indirecta, baseado no estabelecimento previo do limite de morte (L+) dos venenos correspondentes.

De outro lado, tendo em vista a desigualdade de comportamento dos varios venenos quando introduzidos por via hematica, um de nós (A. do A.) já

procurou aferir a actividade de antivenenos pelo poder curativo por elles exercido por via subcutanea sobre camondongos previamente inoculados pela mesma via com a peçonha correspondente. Todavia, esse processo, por ser bastante delicado, ainda não está convenientemente estalonado, de sorte que resolvémos, neste trabalho, recorrer á antiga technica de determinação do poder neutralizante em pombo, tanto mais quanto havia sido esta a usada em todas as determinações feitas primitivamente sobre os que iamos redosear. Para esse fim, empregámos o veneno de cascavel (*C. terrificus*) na determinação do poder do soro anti-crotalico e da fracção anti-crotalica do soro anti-ophidico e o de jararaca (*B. jararaca*) no caso do soro anti-bothropico e da fracção bothropica no soro anti-ophidico, preferindo sempre, em virtude das conhecidas variações da actividade toxica das peçonhas, amostras de veneno que no particular se approximassem dos chamados padrões: DML = 0 mgr. 001 no da cascavel e 0 mgr. 02 no da jararaca, para o pombo, por via venosa.

Os resultados de nossas verificações estão resumidos nos quadros III, IV e V.

QUADRO III

| Partida | Qualidade | Distribuição | Potencia em mgr. por cc. | | Perda | pH actual |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | primitiva | presente | | |
| 23 | não concentrado | 17-VII-1909 | 1,0 | 0,5 | 50 % | — |
| 32 | " " | 15-VII-1911 | 0,5 | 0,2 | 60 % | 7.96 |
| 34 | " " | 29-IX-1911 | 1,8 | 0,95 | 47,3 % | 7.78 |
| 44 | " " | 31-VII-1913 | 1,8 | 1,0 | 44.5 % | — |
| 47 | " " | 3-V-1914 | 1,4 | 0,7 | 50 % | 8.02 |
| 53 | " " | 20-III-1915 | 1,6 | 0,9 | 43,9 % | 7.28 |
| 59 | " " | 13-VII-1916 | 1,2 | 0,5 | 58,4 % | 8.08 |
| 61 | " " | 22-IX-1916 | 0,9 | 0,4 | 56 % | 7.72 |
| 63 | concentrado | 26-XII-1916 | 1,8 | 1,1 | 38,9 % | — |
| 67 | não concentrado | 2-IV-1917 | 1,0 | 0,6 | 40 % | 7.86 |
| 68 | " " | 22-VI-1917 | 0,9 | 0,4 | 56 % | 7.98 |
| 88 | concentrado | 7-I-1922 | 0,8 | 0,6 | 25 % | — |
| 92 | " | 18-I-1923 | 0.8 | 0,4 | 50 % | 5.77 |
| 104 | " | 24-X-1924 | 1,0 | 0,8 | 20 % | 5.15 |
| 107 | " | 27-III-1925 | 0.9 | 0,7 | 23 % | — |
| 111 | " | 11-I-1926 | 1,2 | 0,9 | 25 % | — |

QUADRO IV

REDOSEAMENTO DE ANTIVENENOS BOTHROPICOS ANTIGOS

a. Antivenenos bothropicos monovalentes: contra Bothrops jararaca.

| Partida | Qualidade | Distribuição | Potencia em mgr. por cc. primitiva | Potencia em mgr. por cc. presente | Perda | pH actual | Notas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | não concentrado | 29-XI-1920 | 1,6 | 1,4 | 12 % | | |
| 2 | " " | 11-XII-1920 | 1,6 | 1,3 | 19 % | | |
| 3 | " " | 12-VII-1921 | 2,4 | 1,2 | 50 % | | Em 1926 havia já perdido 33%. |
| 4 | " " | 12-VII-1921 | 2,4 | 1,5 | 38 % | | " " " |
| 5 | " " | 13-VII-1921 | 2,4 | 1,4 | 42 % | | " " " |
| 6 | " " | 19-IX-1921 | 2,2 | 1,1 | 36 % | | Em 1916 havia já perdido 36%. |

b. Antivenenos bothropicos polyvalentes: contra B. jararaca, B. atrox, B. jararacussu, B. alternata, B. neuwiedii, B. cotiara e B. itapetiningae.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 23 | não concentrado | 13-V-1911 | 3,0 | 1,5 | 50 % | 7.37 | |
| 26 | " " | 15-III-1912 | 2,7 | 2,1 | 22 % | — | |
| 30 | " " | 4-XI-1912 | 1,4 | 1,2 | 14 % | — | |
| 32 | " " | 29-IV-1913 | 2,0 | 1,5 | 25 % | 7.59 | |
| 33 | " " | 8-VIII-1913 | 2,2 | 1,0 | 54 % | — | |
| 42 | " " | 3-II-1915 | 2,0 | 1,4 | 30 % | 6.89 | |
| 44 | " " | 8-IX-1915 | 2,0 | 1,2 | 40 % | 6.86 | |
| 46 | " " | 18-XI-1915 | 1,8 | 1,2 | 33 % | — | |
| 47 | " " | 22-III-1916 | 1,8 | 1,1 | 39 % | 7.67 | |
| 50 | mixto | 30-IX-1916 | 1,8 | 0,8 | 56 % | — | Mistura soro pseudo-globulina. |
| 58 | não concentrado | 23-X-1917 | 1,5 | 1,0 | 33 % | — | |
| 96 | concentrado | 4-XII-1922 | 1,6 | 1,2 | 25 % | — | |
| 100 | " | 24-IV-1923 | 2,0 | 1,2 | 40 % | — | |
| 113 | " | 9-XI-1925 | 2,2 | 1,8 | 18 % | 5.56 | |

## QUADRO V

### REDOSEAMENTO DE ANTIVENENOS OPHIDICOS ANTIGOS

**Antiveneno polyvalente contra Crotalus terrificus — Bothrops jararaca, B. atrox, B. jararacussu, B. alternata, B. neuwiedii, B. cotiara e B. itapetiningae e cuja actividade antitoxica é expressa em relação aos venenos de C. terrificus B. jararaca.**

| Partida | Qualidade | Distribuição | Potencia em mgr. por cc. | | Perda | pH actual |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | primitiva | presente | | |
| 23 | não concentrado | 26-VIII-1907 | 0,3 × 0,6 | 0,15 × 0,9 | 50 × 33 % | 7.72 |
| 41 | " " | 30-VI-1908 | 0,3 × 1,3 | 0,125 × 0,8 | 58 × 38% | — |
| 75 | " " | 5-X-1910 | 0,3 × 1,2 | 5,15 × 1,1 | 50 × 8% | — |
| 91 | " " | 7-X-1911 | 0,35 × 2,7 | 0,15 × 1,8 | 51 × 33% | 8.02 |
| 108 | " " | 11-XII-1912 | 0,3 × 2,4 | 0,2 × 1,6 | 33 × 33% | 8.10 |
| 117 | " " | 16-VIII-1913 | 0,5 × 2,0 | 0,25 × 1,3 | 50 × 35% | — |
| 136 | " " | 18-IV-1914 | 0,4 × 1,8 | 0,22 × 0,9 | 45 × 50% | — |
| 145 | " " | 13-III-1915 | 0,4 × 2,0 | 0,24 × 1,3 | 40 × 35% | — |
| 165 | " " | 30-III-1916 | 0,3 × 1,4 | 0,09 × 0,5 | 70 × 64% | 7.42 |
| 166 | " " | 31-III-1916 | 0,3 × 1,0 | 0,11 × 0,6 | 63 × 40% | 8.13 |
| 169 | " " | 5-VI-1916 | 0,2 × 1,4 | 0,11 × 0,5 | 45 × 64% | — |
| 187 | " " | 19-VII-1917 | 1,2 × 2,4 | 0,9 × 1,6 | 25 × 33% | — |
| 197 | " " | 25-V-1918 | 0,4 × 1,4 | > 0,2 × 0,8 | < 50 × 43% | 7.44 |
| 233 | concentrado | 6-VI-1922 | 0,4 × 1,1 | > 0,2 × 0,8 | < 50 × 27% | — |

*Conclusões* — O redoseamento de antivenenos entregues ao consumo ha cerca de 6 a 25 anos, isto é, entre 1907 e 1925, revelou que:

a) em relação ao antiveneno crotalico,

1.° a perda do poder antivenenoso attingiu ou foi inferior a 50 % em 12 das 16 partidas examinadas (75 %), tendo oscillado entre 56 a 60 % nas 4 restantes;

2.° a inactivação parece não estar ligada directamente ao tempo de envelhecimento, pois occorre desde os primeiros annos, parecendo estacionar logo depois;

3.° a concentração não exerce influencia apreciavel sobre a duração da actividade.

b) em relação ao antiveneno bothropico,

1.º a perda do poder antivenenoso attingiu ou foi inferior a 33 % em 10 das 20 partidas examinadas (50 %), oscillando entre 36 e 50 % em 8 (40 %);

2.º a inactivação parece não estar ligada directamente ao tempo de envelhecimento, pois occorre desde os primeiros annos, parecendo estacionar logo depois;

3.º a concentração não exerce influencia apreciavel sobre a duração da actividade.

c) em relação ao antiveneno ophidico,

1.º a perda do poder anticrotalico attingiu ou foi inferior a 50 % em 10 das partidas examinadas (72 %), tendo variado entre 51 e 70 % nas 4 restantes (28 %); a perda do poder antibothropico nas mesmas empolas oscillou entre 8 e 50 % em 12 partidas (85,6 %), havendo sido de 64 % nas 2 restantes (14,4 %);

2.º o poder anticrotalico (anti-neurotoxico) soffre relativamente com maior frequencia a inactivação do que o antibothropico (anti-cytolytico);

3.º a inactivação parece não estar ligada directamente ao tempo de envelhecimento, pois occorre desde os primeiros annos, parecendo estacionar logo depois.

## CONCLUSÕES FINAES

1. O precipitado que se forma no seio das antitoxinas e antivenenos e constituido por pseudo-globulina, parece não exercer influencia alguma, ou pelo menos apreciavel, sobre a actividade dos mesmos.

2. A refinação dos plasmas por precipitação fraccionadas das globulinas e a concentração de iões hydrogenio representada pelo pH encontrado no conteudo das empolas tambem não parecem influenciar a inactivação, mesmo depois de um longo periodo de envelhecimento dos productos.

3. O envelhecimento não é causa apparente da inactivação, a qual occorre nos primeiros tempos, parecendo depois ficar estacionaria.

4. Essa inactivação apenas attinge, mesmo dentro de 25 annos, 50 % do valor primitivo, chegando raramente a 60 % (muito excepcionalmente, a 70 %), não havendo, portanto, razão absoluta para devolução das empolas por parte dos consumidores aos laboratorios productores que, em via de regra, ao indicarem a actividade de seus productos, deixam uma razoavel margem para garantia de seu emprego por longo tempo.

## ABSTRACT

In the retitration of many samples of antitoxins and antivenins that had aged for a period sometimes as long as 25 years under ordinary conditions, without special preservation precautions, in the consumers' hands, many interesting facts have been disclosed. These may be briefly summarized as follows:

1. The precipitate formed with the aging of antitoxins and antivenins and represented by pseudoglobulin seems not to exert any marked influence upon their activity.

2. Neither the method of refination or concentration by fractionated precipitation of globulins as employed at the Instituto Butantan in its routine work since 1917, nor their final hydrogen ion concentration (pH) seems to contribute towards their inactivation even after a long aging as proved by the retesting of samples of batches concentrated as early as 1916 at the Instituto Butantan.

3. Aging itself probably is not the cause of their inactivation as this occurs during the years following their distribution, becoming more or less stabilized afterwards. Their inactivation at first may reach 50 % of their primitive titer of which the loss seldom represents 60 % (exceptionally 70 %) even after 25 years of aging.

5. Therefore, there is no definite reason for aged antitoxins and antivenins to be entirely discarded from consumption in as much as virtually all producing laboratories leave a margin of safety in the titer borne on the label of the ampules of each batch they prepare.


---

## BIBLIOGRAPHIA


1. *Miller, E. C. L.* — On the keeping qualities of antidiphtheritic serum — Centralb. f. Bakt. Orig. XXXVIII:233.1905.
2. *Kinyoun, J. J. & Hitchens, A. P.* — On the deterioration of diphtheria antitoxin — Centralbl. f. Bakt. Ref. XL:1.1907.
3. *Anderson, J. F.* — The influence of age and temperature on the potency of diphtheria antitoxin — Bull. Hyg. Lab. U. S. Public Health and Marine Hosp. Service (66): 9-26.1910.
4. *MacConkey, A.* — On the loss in potency of diphtheria antitoxin when kept at 36°C — J. of Hygiene XII:511.1912.
5. *MacConkey, A.* — Note on the keeping qualities of therapeutic serum — Brit. Med. Journal I:10.1917.
6. *Brazil, Vital* — Duração da actividade antitoxica dos soros — Ann. 1.° Congr. Med. Paulista II:215-225.1917; Collect. Trab. Inst. Butantan I:229-309.(1901-1917).1917.

7. *Calmette, A.* — Les venins, les animaux venimeux et la serotherapie antivenimeuse: 260.1907 (ed. Masson et Cie.).
8. *Houssay, B. A. & Negrette, J.* — Duración de la actividad del suero anti-ofidico — Rev. Assoc. Med. Argentina XXXIV(204):7.1921; C. R. Soc. Biol. LXXXV: 1002.1921.
9. *Phisalix, M.* — Animaux venimeux et venins II:768.1922 (ed. Masson et Cie.).
10. *Anderson, L. A. P. & Caius, J. F.* — The effect of storage on the potency of antivenomous serum — Indian J. Med. Res. XIII.113-119.1925.
11. *Pawlowsky, E. N.* — Gifttiere und ihre Giftigkeit :314.1927 (ed. G. Fischer).
12. *Maitra, G. C. & Ahuja, M. L.* — Potency of time expired antivenomous serum stocked under ordinary conditions of storage at the Central Research Institute, Kasauli — Indian J. Med. Res. XIX:155.1931.
13. *Penteado, D. C.* — Contribuição à sorotherapia anti-diphterica. — Ann. VIII° Congr. Brasil. Med. I:474(1918).1925.
14. *Calmette, A. & Massol, L.* — Les precipitines du serum antivenimeux, vis-à-vis du venin de cobra — Ann. Inst. Pasteur XXIII:155.1909.
15. *Lamb, G.* — Scient. Mem. Off. Med. & Sanit. Depts. Govmt. India (N. S.).16.1905.
16. *Calmette, A.* — op. cit. — Ann. Inst. Pasteur XXIII:258.1909.
17. *Brazil, V.* — Dosagem do valor antitoxico dos soros anti-peçonhentos — Rev. Med. S. Paulo X(22).1907; Serumtherapia anti-ophidica. loc. cit. XII(15).1909 (Collectanea Inst. Butantan I:121-123 et 197-229. 1901-1917); A defesa contra o ophidismo :103.1911 (ed. Pocai & Weiss, S. Paulo); La défense contre l'ophidisme 245-246.1914 (ed. Pocai & Weiss, S. Paulo).
18. *Anderson, L. A. P.* — On the standardization of Russell's viper antivenin — Indian J. Med. Res. XX(1):4.1932.
19. *Maitra G. C. & Mallick, S. M. K.* — Observations on detoxication of Daboia antivenin — Indian J. Med. Res. XX(1):332.1932.
20, 21. *Acton, H. W. & Knowles, R.* — Indian J. Med. Res. I(2):326-335.1913 et III(2): 275-361.1915.
22. *Githens, T. S. & Butz, L. W.* — Venoms of North American snakes and their relationship — J. Immunology XVI(1):71-80.1929; Bull. Antivenin Inst. America II(4):100-104.1929.

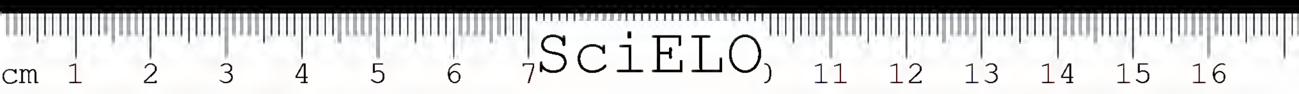
(Trabalho das Secções de Ophiologia e Immunologia do Instituto Butantan, apresentado como nota previa á Semana de Laboratorio. Soc. Med. e Cir. São Paulo, Janeiro de 1932).

# ENSAIO DE CLASSIFICAÇÃO DAS RICKETTSIOSES Á LUZ DOS NOSSOS ACTUAES CONHECIMENTOS

POR

AFRANIO DO AMARAL E J. LEMOS MONTEIRO

---


SciELO

614.526:616.01

# ENSAIO DE CLASSIFICAÇÃO DAS RICKETTSIOSES Á LUZ DOS NOSSOS ACTUAES CONHECIMENTOS

POR

AFRANIO DO AMARAL E J. LEMOS MONTEIRO

## INTRODUCÇÃO

Na recapitulação que fez (1) dos seus diversos trabalhos experimentaes (2-6) sobre a modalidade clinica das "Febres exanthematicas" registada, desde 1929, entre nós, onde recebeu o nome de "Typho exanthematico de S. Paulo" (7), o auctor junior (J. L. M.) já havia mostrado a necessidade de se tornar pluralista o conceito desse importante grupo de infecções, justificando da seguinte maneira o seu pensamento a respeito: "O grupo de infecções representado pelas chamadas "febres typho-exanthematicas" ou "typhus" merece, no estado actual dos nossos conhecimentos, ser desligado do das infecções causadas pelos verdadeiros virus, para constituir um grupo autonomo. Isto se justifica pelo facto de o virus do "typhus" (de um modo geral), quando no sangue ou nos organs (cerebro) dos doentes ou animaes infectados, não apresentar, como vimos, todos os caracteres essenciaes dos verdadeiros virus filtraveis, dos quaes sem duvida differem em muitos pontos os microorganismos do genero *Rickettsia*, cujas relações etiologicas com varias infecções daquelle grupo são geralmente admittidas hoje em dia. Portanto, não se trataria, naquelle caso, de "virus", porém da existencia, no meio circulante e nos organs, do agente infectuoso sob uma forma, talvez granular, como alguns acreditam, e que representaria uma phase da evolução das rickettsias, facilmente visiveis e encontradas em outras condições.

Por outro lado, o facto de não ter sido possivel cultivarem-se artificialmente as rickettsias de um modo pratico, a não ser em meio de tecidos, o que não permitte, por enquanto, sua utilização, segundo os processos bacteriologicos communs, para o estudo da biologia, acção sobre hydrocarbonatos, etc., vem diffi-

cultando a differenciação biologica destes microorganismos e sua classificação de accordo com a nomenclatura bacteriologica.

Enquanto isto não acontece, sua distincção systematica somente poderá ser tentada pelo estudo do comportamento em relação aos animaes sensiveis, a syndrome clinica que determinam no homem, os meios de sua transmissão e conservação na natureza ou, melhor, pelo estudo epidemiologico das formas de infecção pelas quaes são responsaveis.

Baseado nestes elementos, é já possivel fazer-se uma distincção entre as rickettsias responsaveis pelas varias infecções do grupo do "typhus", embora certas modalidades clinicas apresentem relações immunologicas e alguns caracteres communs, que indicam a mesma origem primitiva. E' o que acontece com o typho exanthematico classico, do velho mundo, e o typho endemico na America do Norte (Mexico e Estados Unidos), para os quaes a dualidade foi já admittida por alguns e parece justificar-se pelo que se conhece dos estudos classicos sobre o typho do velho mundo e pelos dos auctores que trabalham na America do Norte (Mooser, Maxcy, Zinsser, Castaneda, etc.), sobre o typho endemico no continente septentrional, no que diz respeito principalmente ao comportamento experimental dos virus, localização e frequencia das rickettsias e epidemiologia das infecções.

Julgamos que, mesmo assim, o conceito dualista em relação ás infecções do grupo do "typhus" é ainda restricto. A este grupo pertencem, sem duvida, outras infecções que se devem distinguir, pelos elementos assignalados e por outros, das duas modalidades mencionadas. E' o que acontece com a febre maculosa das Montanhas Rochosas, com a febre marselhesa, com a febre botonosa de Tunis, com a tsutsugamushi e tambem com o typho exanthematico de São Paulo, para somente citar algumas qu eapresentam distincções mais evidentes quanto ao comportamento experimental, presença e localização de rickettsias e aspecto epidemiologico.

Como nenhuma concepção é definitiva em biologia, na justa expressão de Nicolle e Sparrow, parece-nos razoavel que se torne *pluralista* o conceito sobre este grupo de infecções, que se convencionou chamar "typhus", mas que melhor se denominaria de "rickettsioses", pois que a presença de formas dos microorganismos primeiramente estudados por H. da Rocha Lima na infecção typo, o typho exanthematico do velho mundo, constitue elemento de distincção já estabelecido em relação a algumas formas clinicas e que provavelmente ainda será assignalado em outras infecções do mesmo grupo".

## Aspecto nomenclatural

Desde aquella data, sinão antes della, já se vinha fazendo sentir no espirito da maioria dos pesquisadores da materia a necessidade de um estudo de conjuncto que encarasse as diversas formas de Febres exanthematicas em suas rela-

ções reciprocas e variações as mais curiosas por todo o mundo. Esse grupo de infecções é mais geralmente conhecido pelo nome de Typho exanthematico, denominação contra cuja impropriedade Burnet e Durand (8) e C. Nicolle ainda ha pouco se revoltavam, tendo-se o ultimo manifestado nestes termos textuaes: (9)

> "Je rapellerai, tout d'abord, que le terme *Fièvres exanthématiques* s'applique à *l'ensemble* des maladies dont le Typhus exanthématique du Vieux Monde est le type le plus anciennement connu et qui comprend, en dehors de lui, pour no citer que des infections dont la signification est bien établie: le Typhus endémique ou bénin, mieux Typhus murin, la Fièvre boutonneuse, la Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses et les Fièvres fluviales du Japon et d'Indochine. Le terme, fièvre exanthématique, ne doit donc jamais être employé, sous peine d'incohérence, pour désigner l'une de ces maladies en particulier".

Neste particular, o auctor junior já havia mostrado (1) que a enorme complexidade e confusão reinantes na nomenclatura das Febres exanthematicas ou do "Typho exanthematico" em geral, impunha uma revisão completa, de accordo com os preceitos internacionaes de nomenclatura e que "esse grupo de infecções melhor se designaria pelo nome generico de *Rickettsioses*, adoptando-se para o caso da modalidade observada em S. Paulo o nome de *Rickettsiose brasileira*, conforme Afranio do Amaral e Cesar Pinto propuseram por occasião da discussão deste assumpto numa das sessões da Sociedade de Medicina e Cirurgia de S Paulo (Semana de Laboratorio, janeiro de 1932)". Essa confusão de nomes ainda mais se aggrava quando se tem em vista que, por um descuido linguistico, infelizmente commum nos meios medicos e scientificos, se costuma abreviar o nome original do *Typho exanthematico*, chamando-o simplesmente de *Typho*, que passa, assim, a não ser discriminado da propria *Febre typhoide*, a qual, por outro abuso semelhante de linguagem, frequentissimamente entre nós se appellida tambem de *Typho*. A proposito, não seria talvez inopportuno lembrarmos que, na nomenclatura latina dos estados morbidos, a palavra *Typhus*, usada, seja em sentido particular, acompanhada do especifico *exanthematicus*, seja mesmo em sentido generico, se applica, restrictiva e exclusivamente, á *Febre exanthematica*, de transmissão pediculiana, e de caracter epidemico, conhecida no Velho Mundo pela designação especifica de *Typho exanthematico;* ao contrario, á dothienenteria se deve reservar o nome de *Febre typhoide*, conforme expressão criada por Louis e Chomel, a qual corresponde a *Febris enterica* ou *Typhus abdominalis* da nomenclatura latina, *Abdominaltyphus* da alemã, *Enteric-fever* ou *Typhoid fever* da inglesa, *Fièvre typhoïde* da franceza, *Tifo enterico* da italiana, etc., designações estas que se applicam á infecção que tem por germe o bacillo de Eberth ou

*Eberthella typhi.* [Consulte-se a proposito desta questão terminologica: Encycl. Britannica Vol. XXVII, pp. 503 et 508, ed. XI, 1910-1911].

Delimitada, assim, a significação rigorosa dos termos *Typho exanthematico* e *Febre exanthematica,* não seria inopportuno que se tratasse desde logo de unificar a nomenclatura dessas febres por meio de uma expressão curta, clara e precisa nos moldes das recommendações feitas pelas diversas commissões e congressos nacionaes ou internacionaes que se têm occupado da classificação das molestias. Sem duvida alguma, o numero de designações, já superior a 50, appensas ás diversas modalidades clinicas das Febres exanthematicas, está a reclamar uma unificação urgente que evite de vez a multiplicação de nomes pouco expressivos e que, por isso, só conseguem gerar maior confusão no dominio da pathologia.

Estudando-se os criterios adoptados nas tentativas de classificação nosologica, verifica-se que, mesmo no caso das Febres exanthematicas, elles se circunscrevem principalmente aos seguintes factores: 1.º symptomatologia clinica, como *Febre tibialgica, Febre exanthematica,* etc.; 2.º indicações onomasticas, em homenagem a clinicos ou investigadores, como *Molestia de Brill, Molestia de Megaw,* etc.; 3.º indicações puramente geographicas, taes como: *Typho da Manchuria, Febre exanthematica marselhesa,* etc.; 4.º relações topographicas, taes como: *Febre das trincheiras, Febre fluvial, Typho nautico,* etc.; 5.º importancia epidemiologica, como *Typhus major* e *Typhus minor;* 6.º lesões histologicas, como no caso de *Endangeite especifica infectuosa;* 7.º correlação com o transmissor ou hospedeiro, conforme se dá com *Febre de carrapato da Africa,* ou *do Colorado, Febre dos ratos da Australia,* etc.; 8.º influencias sazonaes conforme acontece com o *Dermotypho estival;* 9.º, finalmente, factores etiologicos, que serviram de justificativa na denominação de *Rickettsiose,* termo generico que, por ser curto, claro e preciso, é aqui adoptado.

A' medida que, com os progressos da medicina experimental no dominio das molestias microbianas, se esclarece o papel dos *incitantes,* impropriamente chamados *agentes* (com exclusão de outros factores concorrentes na causação dessas molestias), mais e mais ganha terreno o criterio etiologico para a classificação nosologica, desapparecendo da circulação ou cahindo na synonymia as diversas denominações baseadas nos restantes criterios acima indicados. Para comprovar esta asserção bastaria lembrar a rapida generalização dos termos: *Pasteurellose, Salmonellose, Babesiose, Blastomycose, Balantidiose, Leishmaniose, Ancylostomose,* e tantos outros, empregados em substituição a designações vagas e complexas e frequentemente improprias ou inexpressivas. E' bem verdade que, sob o ponto de vista philosophico, a classificação nosographica baseada apenas no materialismo etiologico, embora mais pratica do que as demais, apresenta o grave inconveniente de excluir a interferencia dos factores ligados ao proprio "terreno morbigeno". Todavia, acceitas como estão, em virtude de sua pre-

sença constante em todas as modalidades de Febres exanthematicas, as Rickettsias como seu principal, sinão unico nexo ou elemento de ligação ou approximação, parece aconselhavel basear-se nellas, como seu "incitador" commum, a systematização taxonomica desse grupo, tanto mais quanto mesmo estabilidade o termo Rickettsia parece tel-a assegurada por conformidade com as regras fundamentaes de prioridade nomenclatural.

Adoptado o termo *Rickettsiose* no sentido generico, devemos distinguir-lhe as suas diversas modalidades clinicas, unidades especificas ou mesmo variedades de accordo com a evolução mais ou menos completa e a differenciação mais ou menos profunda das Rickettsias correspondentes.

**Pluralidade versus unidade nosologica**

O grande interesse que o problema das Rickettsioses vem despertando decorre, conforme já accentuou o auctor junior, do numero cada vez maior de infecções que se têm descripto ultimamente nos mais distantes paises do mundo e que apresentam certos pontos de affinidade com o *Typho exanthematico*, do qual se apartam pelo aspecto clinico, pelo caracter epidemiologico, pela feição histo-pathologica, pelas reacções immunologicas ou pelos dados de natureza experimental. Consideradas englobadamente, apresentam affinidades tamanhas, que o criterio de sua differenciação deve ser naturalmente multiplo e baseado em provas variadas, porquanto nem um dado, tomado isoladamente, se tem mostrado sufficiente para estabelecer-lhes a distincção. Mesmo a proposito do valor das psovas de immunidade cruzada na separação dos typos de Febres exanthematicas, Nicolle e Laigret (10), ainda recentemente, indicavam a necessidade de serem ellas realizadas sob um criterio quantitativo e fora do chamado "periodo de premunição" de Ed. Sergent, sob pena de se chegar a conclusões apressadas, capazes de complicar o estado de confusão, já reinante em pathologia, por todo este importante grupo de infecções.

Entre as formas de Febres exanthematicas, aquellas sobre cuja differenciação mais se tem escripto são justamente o Typho exanthematico (ou Typho classico, epidemico) e o chamado Typho americano (Typho mexicano, endemico), havendo Nicolle e Laigret, ainda ha alguns meses, mostrado que entre as provas experimentaes se deve incluir a da verificação da antiguidade e grau de immunidade dos animaes receptivos, porquanto só dessa maneira puderam verificar que os virus dessas duas infecções, embora sejam bastante affins entre si, não são absolutamente identicos. Mais recentemente, Ricardo Jorge (11) se exprimiu, ainda com maior emphase, a este respeito:

> "Ce serait une grave erreur, soit d'ordre doctrinal, soit d'ordre pratique, d'assimiler ces diverses espèces étiopathogéniquement et de les rallier indissolublement aux avatars d'un virus unique — nom-

mément celui du typhus exanthématique. Ici, comme ailleurs pour d'autres groupements infectieux, on doit se méfier des tendances unicistes, si séduisantes qu'elles puissent être pour l'esprit".

## Tentativas de systematização
## Resenha bibliographica

Em virtude do estado de chaos reinante neste capitulo da pathologia, varios pesquisadores têm procurado systematizar o assumpto, á medida que surgem novas verificações experimentaes e se esclarecem e se definem as affinidades porventura reinantes entre as diversas Febres exanthematicas.

1. Parece que os primeiros auctores que se occuparam da materia, de uma maneira precisa, foram Burnet e Durand (8) que, em seu trabalho sobre as "Febres indeterminadas" mostraram que ellas têm tendencia a agrupar-se em redor de dois polos ou duas entidades morbidas definidas: o Typho exanthematico, de um lado, e a Tsutsugamushi, de outro, indicando que ao 1.° grupo se deviam desde logo juntar a chamada Molestia de Brill, o Typho americano e o Typho tropical em suas diversas modalidades geographicas e incluindo-se no 2.° grupo o Typho tropical por *Trombicula;* finalmente, pensaram que a Febre exanthematica marselhesa constituiria um 3.° polo ou entidade morbida definida, trazendo ao seu lado a Febre botonosa.

2. Jorge (12), versando sobre o apparecimento de uma Febre exanthematica em Portugal e de sua situação nosologica, propôs a criação de dois grupos provisorios, baseados nos caracteres do exanthema: forma maculosa e forma papulosa, a primeira das quaes se acompanharia de "rash" como unico symptoma exterior, visivel, e reacção positiva de Weil-Felix, enquanto a segunda traria quasi sempre eschara e adenite e reacção negativa de Weil-Felix.

No 1.° grupo collocou as seguintes modalidades: Typho exanthematico (por Pediculideos); Typhus minor ou Molestia de Brill (por Pediculideos?); Febre maculosa das Montanhas Rochosas (por Ixodideos — *Dermacentor andersoni*); Pseudo-typhus tropical (em parte).

No 2.° grupo incluiu as seguintes modalidades: Febre exanthematica ou escharo-nodular (por Ixodideos?); a Tsutsugamushi (por Trombidiideos — *Trombicula akamushi* e outras spp.); "Tick-bite-fever" não recorrente (por Ixodideos — *Amblyomma hebraeum* e outros).

3. Jewel e Cormack (13), estudando a Febre exanthematica que occorre em Kenya, adoptaram uma attitude mais unicista, achando que as varias modalidades clinicas desta infecção, até então descriptas em varios paises, talvez não passassem de meras variações da infecção typo, o Typho exanthematico, e resultantes da influencia diversificadora de climas e modos de transmissão.

4. Felix e Rhodes (14), investigando cuidadosamente o aspecto sorologico da questão, especialmente á luz das provas de agglutinação, admittiram as seguintes modalidades clinicas do Typhus e infecções affins, que corresponderiam a differentes distribuições geographicas e vectores: Typhos epidemico e endemico; Tobardillo ou Typho mexicano; Typho epidemico ou Molestia de Brill; Typho endemico australiano; Typho endemico italiano; Febre maculosa das Montanhas Rochosas; Typho tropical, typo W; Typho tropical, typo K; Tsutsugamushi malaia; Tsutsugamushi japonesa; Febre exanthematica da India e Febre exanthematica de Marselha.

5. Kraus (15) tratou da differenciação biologica das "diversas variedades do Typho exanthematico" mostrando que, sob esse criterio, se podiam considerar como affins ao Typho exanthematico classico a Molestia de Brill e o Tobardillo mexicano, bem como a Febre botonosa da Africa, a Febre exanthematica da Australia, transmittida por *Trombicula* [sic], e o Typho tropical da Malasia com o camondongo por depositario. Considerou ainda affins as outras Rickettsioses, taes como a Febre wolhynica, a Febre maculosa e certas infecções de origem obscura, entre as quaes a Febre mediterranea [sic], a Tsutsugamushi e outras, lembrando, por fim, que o virus, adaptando-se ao hospedeiro, apresentaria modificações em seu poder pathogenico e caracteres antigenicos.

6. O auctor junior (1), baseado principalmente no trabalho de Felix e Rhodes (14) e em estudos subsequentes, organizou e publicou um quadro de classificação das varias febres exanthematicas de conformidade com o criterio sorologico adoptado por esses auctores.

7. Jorge (11), mais recentemente, mostrou que,

> "Le critère de l'immunité croisée prouve que les deux virus [typhus majeur et mineur] sont de la même famille: l'un protège contre l'autre. Déduire de là leur identité de nature absolue, c'est bien risqué: le cowpox protège contre le smallpox et réciproquement, et pourtant les deux maladies ne se confondent pas. Or, les deux typhus s'écartent justement par la double réaction rat-cobaye: sensibilité du rat au virus majeur [sic] — électivité du virus mineur pour la vaginale du cobaye. Donc, des virus distincts".

Accentuou ainda que, em setembro do corrente anno, o 1.º Congresso de Hygiene Mediterranea reunido em Marselha, fez a seguinte recommendação:

> "que les médecins méditerranéens et le médecins des autres pays portent leur attention sur tous les cas de *Fièvres exanthématiques*, de façon à arriver à une connaissance de plus en plus exacte de chacune de ces fièvres et de leurs rapports entre elles. Il engage les

laboratoires à poursuivre la même étude avec les virus et il demande aux cliniciens et aux médecins de laboratoire de rester en contact et d'entrer en relation avec les laboratoires compétents et les Services d'Hygiène.

Il estime que la dénomination de "Fièvre Boutonneuse", déjà employée, convient d'être retenue pour désigner la maladie décrite pour la première fois par Conor et Bruch, à Tunis, et retrouvée en divers points du littoral méditerranéen, en particulier à Marseille par Olmer, en Italie et dans d'autres pays. Le terme de "Fièvre exanthématique" doit être réservé a l'ensemble des maladies dont le Typhus exanthématique est le type et dont fait partie la Fièvre boutonneuse".

Finalmente, depois de mostrar as differenças existentes entre o Typho epidemico e o Typho endemico, encarou a Familia typho-exanthematica á luz dos caracteres pathologicos, de um lado, e dos caracteres biologicos, de outro lado; entre os primeiros incluiu a forma do exanthema, que pode ser maculoso ou então papuloso, tambem chamado botonoso ou nodular e, neste caso, acompanhado ou não de eschara e adenite de caracter secundario; entre os caracteres biologicos juntou as reacções experimentaes, as especies vectoras e as especies parasitarias. A proposito, mostrou que a reacção de Weil-Felix, por si só, não serve de meio de differenciação, porquanto varia segundo a amostra empregada e segundo o periodo clinico da infecção; a experimentação se faz em animaes reactivos como os camondongos e a cobaia e pela cultura virulenta na camara anterior do olho (methodo de Nagayo); os transmissores são insectos (pulgas e piolhos) e Ixodideos [O auctor omittiu os Trombidiideos]; as especies parasitarias ou "agentes pathogenicos" seriam protozoarios do genero *Rickettsia* [A maioria dos experimentadores consideram as Rickettsias como bacterias], das quaes assignalou as mais importantes. A' luz dos caracteres do exanthema, maculoso ou papuloso, distinguiu dois grupos de infecção: o exanthematico e o botonoso, subdivindo-os do seguinte modo:

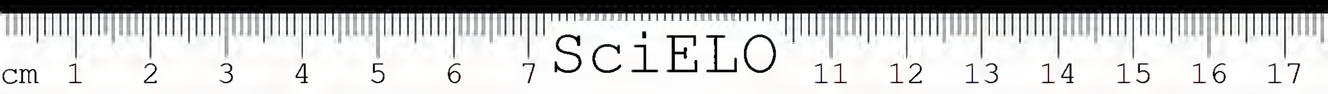
1.° grupo — Febre exanthematica de exanthema maculoso, sem papulas, nem eschara, nem adenite. Reacção de Weil-Felix geralmente positiva:

*Typhus major* (historico). Vector pediculideo: *Pediculus vestimenti*. Rato refractario, cobaia receptiva com lesões cerebraes.

*Typhus minor* (murino, Brill). Vector pulicideo: *Xenopsylla cheopis* e *Ceratophyllus fasciatus*. Enzootia murina, cobaia receptiva com lesões escrotaes.

*Febre maculosa (spotted fever) das Montanhas Rochosas*. Vector ixodideo: *Dermacentor andersoni*.

10



2.° grupo — Febre exanthematica de exanthema papuloso ou nodoso, de eschara e adenite mais ou menos frequentes. Reacção de Weil-Felix geralmente negativa ou pouco pronunciada e tardia:

*Febre botonosa.* Vector ixodideo: *Rhipicephalus sanguineus.*

*Febre tsutsugamushi.* Vector acariano [aliás, trombidiideo]: *Trombicula akamushi* e outros *Trombicula.*

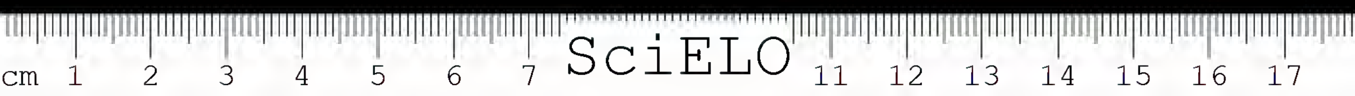
*Tick-bite fever* não recorrente. Vector ixodideo: *Amblyomma hebraeum* e outros carrapatos.

## Phylogenia das febres exanthematicas

Antes de examinarmos as possiveis relações phylogeneticas das Rickettsias em suas actuações como factores pathogenicos, devemos encarar a significação do termo "causa" em pathologia e, depois, examinar a possibilidade das adaptações daquelles germes.

*Rickettsias como "causadores"* — E' verdadeiramente surprehendente a unanimidade de vistas que parece reinar entre os microbiologistas quando, em seus trabalhos sobre molestias infectuosas, se referem aos microbios, na accepção lata do termo, como "causa" das mesmas, fazendo exclusão systematica, sinão propositał, de todos os demais factores que interferem em sua etiopathogenia. Empolgados pelas doutrinas meramente morphologicas que servem de substratum á presente phase microbiana da pathologia, os investigadores modernos desprezam frequentemente a influencia que os phenomenos physiologicos ou physico-chimicos parecem exercer no processar das molestias sob a influencia, quer de factores internos, geneticos ou não, ou constitucionaes do proprio organismo, quer sob a acção de agentes externos ou ambientes. E' bem verdade que, de vez em quando, se ouve uma voz ou outra dissonante a levantar-se no meio desta verdadeira symphonia e a clamar pela necessidade de se deixarem de considerar os microbios como "causas" exclusivas daquellas molestias, mas sim como seus "incitantes" ou "excitantes". Guiados pelos modernos estudos biologicos, esses ultimos auctores e especialmente Rössle (16), Siemens (17), Bauer (18), Oertel (19), Lenz (20). Jennings (21) e Link (22) têm principalmente mostrado a influencia dos factores geneticos e não geneticos na etiologia dos estados morbidos. A simples interferencia dos microbios não pode explicar a razão de certos individuos ou especies ss mostrarem refractarios a determinadas infecções, nem o facto de, sob determinadas condições climaticas, desapparecerem rapidamente os symptomas de certas infecções parasitarias como, por exemplo, acontece com o impaludismo. Tampouco, em relação ás Febres exanthematicas se podem considerar as Rickettsias como suas causas exclusivas, pois isto deixaria inexplicavel, entre outros phenomenos, o da resistencia de certas especies de animaes á infecção experimental.





*Adaptações das Rickettsias* — Quando se compulsa a literatura sobre as Rickettsioses em geral e se encara a maneira pela qual os varios auctores se exprimem, de um lado, a respeito da possivel evolução que soffreram as Rickettsias até se tornarem altamente pathogenicas e, de outro lado, se manifestam a cerca da provavel phylogenia das diversas modalidades clinicas destas infecções, não se pode deixar de estranhar a nitida influencia que as theorias lamarckianas parece terem exercido sobre o espirito dos investigadores deste capitulo. Na verdade, verifica-se frequentemente que, sem fazerem a minima resalva a proposito da significação philosophica de seus postulados, os investigadores falam desembaraçadamente de adaptações que as Rickettsias teriam apresentado, sob a influencia de condições de terreno no organismo dos varios transmissores e depositarios na natureza, e de outros phenomenos de igual caracter.

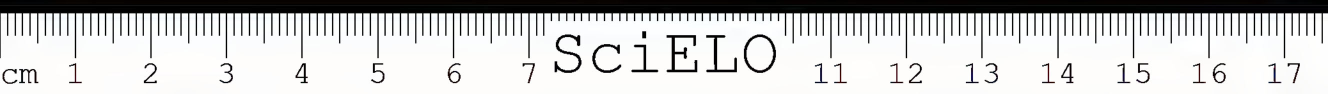
A este proposito convem lembrar que no estado actual dos nossos conhecimentos se devem distinguir dois grupos de seres de accordo com o caracter das transformações que soffrem no decorrer da sua evolução phylogenetica, ficando num grupo as bacterias e as cyanophyceas e no outro a quasi totalidade das demais formas, actualmente conhecidas.

Encarando-se particularmente esse 2.º grupo, reconhece-se que não ha especie baseado em um só caracter morphologico e que as chamadas "especies" divergentes por um só caracter physiologico não passam de meras variedades, conforme Jacot (23) mostrou recentemente. De accordo com esta doutrina, qualquer especie se distingue das demais mesmo congenericas, por uma serie de caracteres: morphologicos, physiologicos e ethologicos. Assim sendo, uma especie origina-se pela mudança, não de um só caracter, mas de varios ao mesmo tempo; essas mudanças correspondem a mutações ou alterações de origem germinal e não a somações ou alterações de natureza somatica.

Quanto ás bacterias e cyanophyceas constitutivas do 1.º grupo, como organismos sem nucleo definido e ao contrario do que occorre mesmo com os proprios cogumelos, cuja actuação para com o respectivo hospedador, poder de invasão e virulencia, podem ser condicionados, pelo menos em parte, por factores geneticos, segundo se deprehende dos estudos de Fischer e Gäumann (24), de Kniep (25) e de Goldschmidt (26), naquelle grupo os individuos se podem considerar como portadores de um certo numero de geneos de uma só ou de varias qualidades, distribuidos irregularmente na massa cytoplasmica. Outrosim, as suas hypotheticas unidades hereditarias não são de natureza chromosomica, de sorte que sua herança não é de typo mendeliano, conforme ainda recentemente Wright (27) accentuava.

Seja qual for desses grupos o em que se venham de futuro incluir as Rickettsias, parece-nos indiscutivel que sua presença, sob condições naturaes, em determinadas formas animaes, com exclusão de outras, é o sufficiente para justificar o reconhecimento de especies autochtonas, mesmo na falta de differenças por ventura morphologicas que a technica microbiologica ainda não conseguiu trazer á luz.





Conforme Robson (28) deixou bem claro, o habitat ou qualquer habito de um grupo de individuos tem, em biologia geral, valor tão especifico quanto um caracter estructural, porquanto se origina como unidade independente, coincide com peculiaridades de caracteres morphologicos — embora demasiado finas para se usarem como base de differenciação systematica — e, entre as formas nucleadas, obedece ás leis especiaes de transmissão e hereditariedade. A preferencia que se dá actualmente, na differenciação das especies, aos caracteres morphologicos é de natureza bastante precaria, porquanto é devida apenas á facilidade que os biologos (em sua maioria morphologos) sentem em ver, medir ou descrever taes caracteres, o que não seria possivel com os habitos, que se perdem desde que o individuo morre e que são por assim dizer intangiveis mesmo no individuo vivo... Alem disso, dentro de um mesmo genero, a selecção natural parece operar-se muito mais por meio de habitos (factores ethologicos) e por preferencias de habitat (factores ecologicos) do que através de estructuras superficiaes, cujas differenças apparentemente só superam o valor daquelles factores, como elementos selectivos, quando são tão accentuadas, que ultrapassam o limite mesmo das especies e adquirem a significação de caracteres genericos ou familiaes.

Nessas condições, as constantes variações que se notam no comportamento das Rickettsias e a relativa facilidade de sua adaptação, pelo menos apparente e provisoria (porque se trata de experimentações em decurso ainda muito limitado) se podem explicar á luz de qualquer das duas doutrinas, lamarckiana ou mendeliana: a) caso fossem anucleadas, como parece por estarem incluidas entre as bacterias, as Rickettsias, de accordo com a explicação lamarckiana, adaptar-se-iam facilmente e soffreriam modificações physiologicas importantes em seu comportamento consoante os transmissores ou depositarios por cujo organismo tivessem de transitar; b) si, porém, se viesse a demonstrar que são nucleadas, a simples presença de um agrupamento de individuos de habitos identicos em seu comportamento physiologico e dentro de um mesmo habitat pareceria sufficiente, dentro do mais puro mendelismo, para caracterizar uma especie differenciada. Desse ou daquelle modo, quando um investigador se defronta com um individuo ou grupo de individuos que se apartam, por esses caracteres, de outros já conhecidos, sente elle para logo a necessidade de decidir si tem diante de si uma forma nova que é preciso denominar e descrever para mais facilmente a distinguir das demais, ou apenas uma variação de forma já denominada e descripta. Em qualquer dos casos corre elle risco: no 1.º, porque pode vir a descrever um ser já conhecido; no 2.º, porque pode deixar ignorado um ser ainda desconhecido, o que é, sem duvida, muito mais grave para o proprio progresso da sciencia. Assim sendo, é prudente ou pelo menos indicado que o investigador applique uma denominação distincta a cada ser differente que encontra dentro das condições acima referidas.

Devemos, entretanto, accentuar que, á luz do criterio adoptado em bacteriologia, a distincção especifica entre os germes frequentemente se baseia na simples

fermentação de glycidas ou em outras divergencias de ordem physiologica ou physico-chimica, conforme se dá dentro dos generos *Shigella* Castellani & Chalmers, 1919, *Salmonella* Lignières, 1900, *Eberthella* Buchanan, 1918, *Escherichia* C. & C., 1919 e tantos outros. A proposito é curioso notar que os estudos mais recentes sobre dissociação microbiana vêm revelando, dentro das especies, a existencia de variações culturaes correspondentes ás "variações dissociativas" da nomenclatura de Winslow, (29) que, embora não sejam tão fixas quanto os caracteres especificos, parecem ás vezes mais importantes do que elles. Todos estes factos estão a demonstrar a necessidade de uma futura revisão, para poderem ser devidamente interpretados perante os postulados, felizmente mutaveis e, portanto, capazes de aperfeiçoamento, da philosophia biologica.

Feitas estas considerações que justificam a orientação que tomámos neste trabalho, registando como novas algumas formas de Rickettsias que se distinguem das já conhecidas por meio de caracteres de diversa significação, vejamos as varias explicações que se têm ultimamente aventado para as modificações assignaladas no comportamento das Rickettsias e sua acquisição de virulencia para o organismo dos arthropodos, dos roedores, de outros animaes de experimentação e do homem:

1. Segundo Jewell e Cormack (13), a primitiva forma de Rickettsia, entre as occorrentes nas Febres exanthematicas seria a do piolho humano (*Rickettsia prowazeki*), causadora do typho exanthematico ou epidemico, o qual, a seu ver, seria a infecção original ou "mother infection".

2. Para Mooser (30) o typo murino (*Rickettsia mooseri* Monteiro, 1931), "causador" da Rickettsiose endemica, constituiria a forma primitiva do germe, enquanto o typo humano, insulado em casos epidemicos (Typho exanthematico), representaria a forma de adaptação secundaria ao cyclo piolho-homem.

3. No opinar de Nicolle (31), pelo contrario, o typo mais antigo seria o virus historico (*R. prowazeki*) que teria, porém, uma origem commum com o virus murino.

4. De seu lado, Kodama (32) mostra-se inclinado a acreditar que a Rickettsia primitiva é a da Molestia de Brill ou Typho endemico. Segundo este auctor, o typho teria sido a principio uma doença dos ratos, raramente transmittida ao homem pela pulga e o virus, assim, teria infectado o homem e o respectivo piolho e originado a forma epidemica da infecção. Esta, aliás, é a opinião de Mooser anteriormente emittida.

5. Finalmente, para Fletcher (33) as Rickettsias teriam sido originalmente parasitas de plantas que ainda hoje servem de alimento a mucuins (Trombidiideos) adultos; as modalidades clinicas mais remotas da infecção teriam sido as transmittidas por estes Arthropodos ou por Ixodideos; o Typho exanthematico só teria apparecido quando o homem começou a vestir-se, de sorte que, automaticamente, aquelles germes se adaptaram aos Pediculideos.

## Historia Natural das Rickettsioses

Admittindo-se a possibilidade dessas adaptações e transformações das Rickettsias, poder-se-ia pensar na seguinte evolução:

1.ª phase: Sendo originalmente phyto-parasitas, conforme suggeriu Fletcher, as Rickettsias teriam, de inicio, contaminado os Trombidiideos que ainda hoje, em sua phase nymphal e adulta, se alimentam de succos vegetaes; em seguida os Trombidiideos teriam accidentalmente transmittido as Rickettsias a certos roedores que, com a evolução, lhes passaram a servir de hospedadores naturaes e, depois, ao homem, conforme se dá com a *Rickettsiose oriental* ou *Tsutsugamushi* no Japão, na Formosa, na Sumatra e talvez na Cochin-China; *este seria o grupo I das Rickettsioses.*

2.ª phase: Chegando ao organismo dos roedores, as Rickettsias teriam talvez encontrado condições frequentes de facil disseminação e contaminado então, em primeiro logar, entre os ecto-parasitas desses depositarios roedores, os Ixodideos, por cujo intermedio teriam infectado mais tarde o homem, e determinado então a *Rickettsiose tropical* com as formas assignaladas na Malasia, na India, na Australia e na Africa: *este seria o grupo II das Rickettsioses.*

3.ª phase: Transformados os roedores em depositarios constantes e infectados os Ixodideos, teria sido facil, desse modo, ás Rickettsias disseminar-se gradativamente por diversas regiões do globo, acompanhando as migrações primitivas das raças humanas, seja para a bacia do Mediterraneo, onde surgiu a *Febre botonosa*, seja para a região norte-americana, onde appareceu a *Febre maculosa nearctica* em suas duas modalidades (typo Oeste e typo Leste) ou, então, para a propria região meridional, onde já está assignalada a *Febre maculosa neotropica* ("Typho exanthematico de S. Paulo"), sendo provavel o registo de outras formas affins em regiões sul-americanas: *este seria o grupo III das Rickettsioses.*

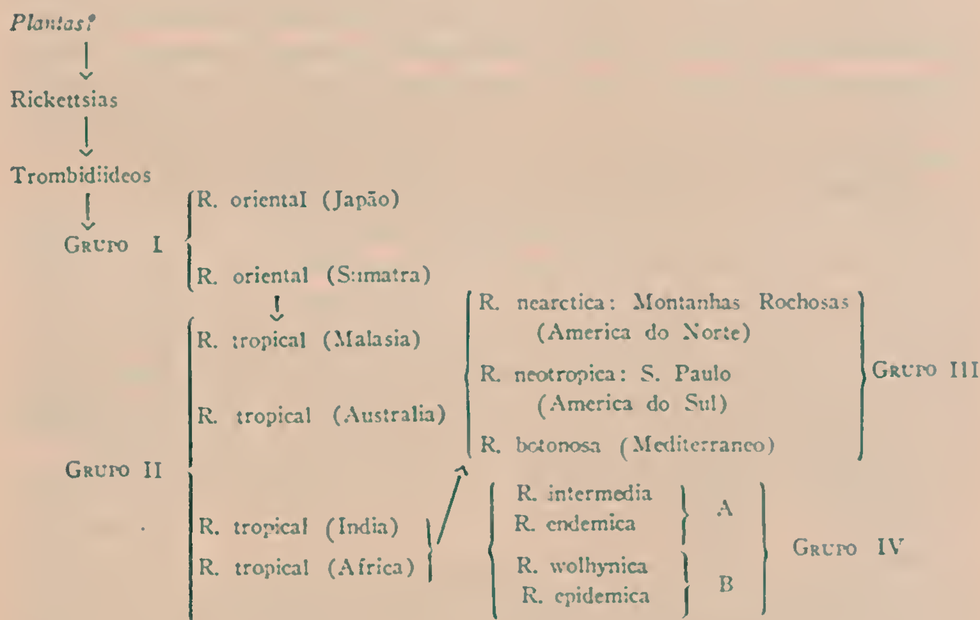
4.ª phase: Impossibilitadas talvez de chegar ao homem com frequencia, as Rickettsias ter-se-iam restringindo quasi exclusivamente aos roedores, entre os quaes fariam hodiernamente passagens successivas e geralmente pouco nocivas a elles, por meio das pulgas respectivas, que teriam começado então a actuar como vectores e por cuja picada os homens só occasionalmente se poderiam contaminar, originando-se, assim e em 1.º logar, a modalidade geralmente murina ou enzootica: *Rickettsiose intermedia ou minor;* teria por ventura sido igualmente possivel ás Rickettsias, nesse estagio de sua phylogenia, fazer passagens mais frequentes pelo homem e pelos roedores e, nestas condições, determinar uma nova modalidade: *Rickettsiose endemica ou murina,* geralmente confundida com a forma *intermedia* ou *minor;* finalmente, havendo contaminado o homem e tendo este, ao chegar a climas mais frios, sentido a necessidade de usar vestimentas, criando, assim, um facil abrigo a Pediculideos, as Rickettsias teriam

contaminado estes ecto-parasitas, occasionando uma infecção, já agora de caracter epidemico, devido á facilidade da vehiculação do germe, podendo-se, dessa maneira, explicar o apparecimento, primeiro da *Rickettsiose wolhynica*, geralmente benigna, e, mais tarde, ou então ao mesmo tempo, da *Rickettsiose epidemica ou major* no homem, depositario definitivo e exclusivo do germe nesta phase: *este seria o grupo IV das Rickettsioses.*

Esta possivel evolução, que se baseia em dados de natureza ethnologica e archeologica, associados ás provaveis migrações das raças humanas, e de natureza etiopathogenica, immunologica, epidemiologica e zoogeographica, ligados á biologia das proprias Rickettsias, pode ser representada no seguinte diagramma:

**Evolução historica das Rickettsioses**

DIAGRAMMA I

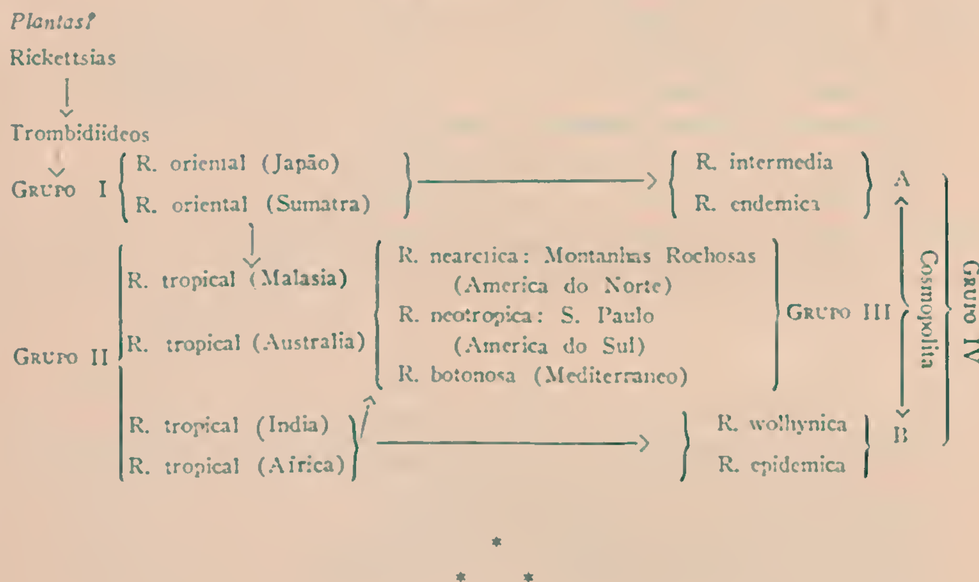



Embora baseada em mera hypothese, esta explicação da interferencia dos acarianos na iniciação da phylogenia das Rickettsioses, está em suas linhas geraes, conforme, não somente com os varios factos de natureza immunologica registados sobretudo por Mooser, Nicole e Fletcher, sinão tambem com certos dados chronologicos ou historicos, taes como: 1.° o reconhecimento, entre os antigos chineses, da relação entre a sua Febre exanthematica e um acariano ou Trombidiideo: 2.° a provavel associação de effeito e causa, por parte dos Aztecas, entre a sua Febre exanthematica ou tobardillo (Matlalzahuatl) e um acariano (Tlalzahuatl) que, antigamente, lhe teria servido de transmissor. Estes dados histo-

ricos, tirados do trabalho de Sambon (34), estão discutidos pelo nosso collega, F. da Fonseca, em uma de suas "Notas de Acareologia", publicado em outra parte desta Revista (35).

No decorrer dessa evolução pode ter acontecido que, ao invés de se terem processado no inicio da 4.ª phase, a interferencia defintiva dos roedores na manutenção da pathogenicidade das Rickettsias na natureza e a passagens destas ás pulgas tenham occorrido muito mais precocemente, isto é, logo após a acquisição de pathogenicidade por parte desses microorganismos como resultado mesmo de sua passagem pelo organismo dos Trombidiideos e, por intermedio destes, pelo dos roedores. Nestas condições o grupo correspondente a esta phase passaria a ser o 2.º e o diagramma da phylogenese acima modificar-se-ia de algum modo, ficando assim organizado:

DIAGRAMMA II




*

* *

Baseados agora nos dados precedentes e dando especial attenção ás provas de immunidade cruzada, conforme recommendaram Nicolle e Laigret (10) e á especificidade do transmissor habitual, segundo estudos recentes, resolvemos suggerir a distribuição das varias formas clinicas de Rickettsioses em grupos ou unidades centraes, separaveis em diversas formas. Os grupos ou unidades centraes seriam condicionados pelos respectivos typos de depositarios naturaes e pelas provas de immunidade cruzada, positivas entre as varias formas que, por sua vez, obedeceriam á especificidade do transmissor habitual dentro da respectiva distribuição zoogeographica e outros caracteres. Essa associação dos

criterios etiopathogenico, immunologico, epidemiologico e chorologico, parece sufficiente para justificar a criação dos seguintes grupos e respectivas modalidades clinicas, dentro da provavel phylogenia das Rickettsioses:

## SYSTEMATIZAÇÃO DAS RICKETTSIOSES:

### Grupo I

*Forma A.* Rickettsiose oriental: typo do Japão (e Formosa e Cochinchina).
Synonymos: Febre fluvial do Japão; Shimamushi, Tsutsugamushi e Doença de Kedani.
Hospedadores naturaes: Roedores, constantes.
Transmissor habitual: *Trombicula akamushi.*
Rickettsia: *R. orientalis* Nagayo et al., 1930.

*Forma B.* Rickettsiose oriental: typo da Sumatra.
Synonymos: Tsutsugamushi; Doença de Kedani e Pseudo-typhoide da Sumatra (Schüffner).
Hospedadores naturaes: Roedores, constantes.
Transmissor habitual: *Trombicula deliensis.*
Rickettsia: *R. orientalis*, var. *schüffneri*, var. n.

Nota: A immunidade cruzada é positiva entre os 2 typos.

### Grupo II

*Forma A.* Rickettsiose tropical: typo da Malasia.
Synonymos: Typho tropical dos Estados Malaios (forma K ou rural): Scrub typhus e Doença de Megaw.
Hospedadores naturaes: Roedores, constantes.
Transmissor habitual: Ixodideos, provavelmente.
Rickettsia: *R. megawi*, sp. n.

*Forma B.* Rickettsiose tropical: typo da India.
Synonymos: Typho esporadico da India (Sporadic typhus like-disease of India) e Doença de Megaw.
Hospedadores naturaes: Roedores, constantes.
Transmissor habitual: Ixodideos, provavelmente.
Rickettsia: *R. megawi*, var. *fletcheri*, var. n.

*Forma C.* Rickettsiose tropical: typo da Australia.
Synonymos: Typho australiano de Queensland e Febre do litoral.
Hospedadores naturaes: Roedores, constantes.

Transmissor habitual: Ixodideos, provavelmente.
Rickettsia: *R. megawi*, var. *breinli*, var. n.

*Forma D.* Rickettsiose tropical: typo da Africa.
Synonymos: Febre de carrapato da Africa (Tick-bite-fever) e Doença de Nuttall e Sant'Anna.
Hospedadores naturaes: Roedores, constantes.
Transmissor habitual: Ixodideos, provavelmente.
Rickettsia: *R. megawi*, var. *pijperi*, var. n.

Nota: A immunidade cruzada é apparentemente positiva entre os 4 typos.

## Grupo III

*Forma A.* Rickettsiose botonosa: typo Mediterraneo.
Synonymos: Febre botonosa de Tunis; Febre exanthematica e Febre eruptiva.
Hospedadores naturaes: Cão e, possivelmente, roedores; o proprio transmissor pode representar o papel de depositario na natureza.
Transmissor habitual: Ixodideo (*Rhipicephalus sanguineus*).
Rickettsia: *R. conori* Brumpt, 1932.

*Forma B.* Rickettsiose maculosa nearctica: typo Oeste.
Synonymos: Febre maculosa das Montanhas Rochosas; Febre maculosa das Montanhas Rochosas (typo oeste) e Endangeite especifica infectuosa (Wolbach).
Hospedadores naturaes: Roedores, constantes; o transmissor pode representar o papel de depositario.
Transmissor habitual: Ixodideo (*Dermacentor andersoni*).
Rickettsia: *R. rickettsi* (Wolbach, 1919).

*Forma C.* Rickettsiose maculosa nearctica: typo Este.
Synonymos: Febre maculosa das Montanhas Rochosas (typo leste); Febre de carrapato do Colorado (Colorado tick-fever) e Febre maculosa de Minnesota, etc.
Hospedadores naturaes: Roedores, constantes; o proprio transmissor pode representar o papel de depositario.
Transmissor habitual: Ixodideo (*Dermacentor variabilis*).
Rickettsia: *R. typhi* (Wolbach et Todd, 1920)?

*Forma D.* Rickettsiose maculosa neotropica: typo de S. Paulo.
Synonymos: Typho exanthematico de S. Paulo; Typho endemico de S. Paulo; Rickettsiose brasileira; Doença de Piza, Meyer e Gomes e Febre maculosa de S. Paulo.

Hospedadores naturaes; Roedores, constantes; o proprio transmissor pode representar o papel de depositario.

Transmissor habitual: Ixodideo (*Amblyomma cajennense*, provavelmente).

Rickettsia: *R. brasiliensis* Monteiro, 1931.

Nota: A immunidade cruzada é positiva entre os 4 typos.

## Grupo IV

*Forma A.* Rickettsiose intermedia ou minor.

Synonymos: Doença de Brill; Typho benigno; Febre exanthematica marselhesa; Typho nautico; Typho marinho; Typho dos navios de guerra; (Doença dos ratos de Toowoombamouse disease); Febre eruptiva, de Carducci e Dermotypho estival não diffusivel, de Pecori.

Hospedadores naturaes: Roedores, constantes.

Transmissor habitual: Pulicideos.

Rickettsia: *R. muricola* Monteiro et Fonseca, 1932.

*Forma B.* Rickettsiose endemica ou murina.

Synonymos: Typho americano; Typho mexicano (tobardillo); Typho dos Estados do Sul dos E.E. U.U.; Typho exanthematico do Novo Mundo; Doença de Brill; Typho da Mandchuria; Typho endemico; Typho tropical (forma urbana ou W ou Shop-typhus) dos Estados Malayos; Typhus like-fever (Australia) etc. e Typho exanthematico guatemalteco.

Hospedadores naturaes: Roedores, frequente + Homens, frequentes.

Transmissor habitual: Pulicideos.

Rickettsia: *R. mooseri* Monteiro, 1931.

*Forma C.* Rickettsiose wolhynica ou quintana.

Synonymos: Febre dos 5 dias; Febre quintana; Febre tibialgica; Febre wolhynica e Febre das trincheiras.

Hospedador natural: Homem, constante.

Transmissor habitual: Pediculideo (*Pediculus humanus*).

Rickettsia: *R. pediculi* Rocha Lima, 1916.

*Forma D.* Rickettsiose epidemica ou major.

Synonymos: Typho exanthematico; Typho exanthematico epidemico; Typho exanthematico classico; Typho exanthematico do Velho Mundo; Typho historico (Nicolle); Typho epidemico e Typhus major (Troisier e Cattan).

Hospedador natural: Homem, constante.





Transmissor habitual: Pediculideo (*Pediculus humanus*).
Rickettsia: *R. prowazeki* Rocha Lima, 1916.

Nota: A immunidade cruzada é positiva entre os 4 typos.

---

Esperamos que esta classificação preliminar, baseada, em parte, em estudos comparativos da Rickettsiose maculosa neotropica com os outros typos e, em parte, na analyse dos trabalhos de muitos auctores citados na "Bibliographia geral", a seguir, mereça a critica dos estudiosos, como uma pequena contribuição que é, de nossa parte, ao esclarecimento das relações reciprocas e da validez das innumeras febres exanthematicas descriptas ultimamente. Enquanto não for adoptada com as modificações que a experiencia ditar e dada a possibilidade de vir tambem a ser rejeitada á luz de novas contribuições, continuaremos a usar a antiga nomenclatura.

---

## RESUMO

Todos os investigadores de questões ligadas ás Febres exanthematicas sentem crescente necessidade de uma classificação que unifique a nomenclatura destas molestias á luz de um criterio invariavel, embora multiplo, tornando, assim, possivel a systematização da materia, de sorte a facilitar sua comprehensão.

Do ponto de vista puramente nomenclatural, seria preferivel que, encarando-se primeiramente, de accordo com as modernas tendencias nosographicas, o "incitante" generico ou "factor etiologico" das Febres exanthematicas, se desse ás mesmas a denominação de *Rickettsioses.* A distincção de suas modalidades clinicas ou unidades especificas ou mesmo de suas variedades deveria basear-se no reconhecimento dos diversos typos de depositarios naturaes e vectores habituaes, nas provas de immunidade cruzada e nos caracteres demiologicos e chorologicos respectivos, reacções sorologicas e comportamento experimental.

A systematização do assumpto deveria, de seu lado, fundar-se nos dados fornecidos pela provavel evolução historica e phylogenia das Febres exanthematicas, encarando, portanto, a possibilidade de haverem as Rickettsias, talvez originalmente phyto-parasitas, contaminado primeiro certos Trombidiideos que as teriam transmittido a roedores e, depois, ao homem, causando, assim, nessa provavel 1.ª phase, a Rickettsiose oriental ou Tsutsugamushi, do Japão, Formosa, Sumatra e mesmo da Indo-China; a possibilidade de, espalhando-se por intermedio dos roedores e contaminando depois outros Acaros, terem as Rickettsias, em

uma 2.ª phase, contribuido para o apparecimento da Rickettsiose tropical, assignalada na Malasía, na India, na Australia e na Africa; a possibilidade de, limitando-se mais tarde á transmissão por alguns Ixodideos e tendo os roedores já como seus depositarios constantes, haverem-se as Rickettsias, numa 3.ª phase, disseminado por outras regiões do globo, acompanhando as primitivas migrações das raças humanas, e formado, na bacia do Mediterraneo a Rickettsiose botonosa, na America do Norte a Rickettsiose maculosa nearctica representada pelos 2 typos conhecidos e, na America do Sul a Rickettsiose maculosa neotropica correspondente ao "Typho exanthematico de S. Paulo"; finalmente, a possibilidade de, tendo-se talvez, em sua phase actual, limitado quasi exclusivamente ao organismo dos roedores, terem as Rickettsias sua transmissão facilitada pelas pulgas que só occasionalmente incitariam, como infecção humana, a Rickettsiose intermedia, ou a Rickettsiose endemica quando suas passagens pelo homem fossem mais frequentes ou, então, quando essas passagens se tivessem tornado exclusivamente inter-humanas, o apparecimento posterior da Rickettsiose wolhynica e tambem da Rickettsiose epidemica.

A cada phase destas corresponderia actualmente um grupo de modalidades clinicas de Rickettsioses, possuidoras de caracteres communs, mas distinguiveis entre si pela especificidade de seu transmissor habitual e por certos outros caracteres. Nestas condições, nós teriamos 4 grupos de Rickettsioses, a saber:

*Grupo I. Rickettsiose oriental*

1. Typo do Japão — *Rickettsia orientalis* Nagayo et al. 1931.
1 A. Typo da Sumatra — *Rickettsia orientalis*, var. *Schüffneri*, var. n..

*Grupo II. Rickettsiose tropical*

1. Typo malaio — *Rickettsia megawi*, sp. n..
1 A. Typo australiano — *Rickettsia megawi*, var. *Breinli*, var. n..
1 B. Typo indiano — *Rickettsia megawi*, var. *Fletcheri*, var. n..
1 C. Typo africano — *Rickettsia megawi*, var. *Pijperi*, var. n..

*Grupo III*

1. Rickettsiose botonosa, typo mediterraneo — *Rickettsia conori* Brumpt, 1932.
2. Rickettsiose maculosa nearctica, typo oeste — *Rickettsia rickettsi* (Wolbach, 1919).
3. Rickettsiose maculosa nearctica, typo leste — *Rickettsia typhi* (Wolbach et Todd, 1920).
4. Rickettsiose maculosa neotropica, typo de S. Paulo — *Rickettsia brasiliensis* Monteiro, 1931.

*Grupo IV*

1. Rickettsiose intermedia ou minor — *Rickettsia muricola* Monteiro et Fonseca, 1932.
2. Rickettsiose endemica ou murina — *Rickettsia mooseri* Monteiro, 1931.
3. Rickettsiose wolhynica — *Rickettsia pediculi* Rocha Lima, 1916.
4. Rickettsiose epidemica ou major — *Rickettsia prowazeki* Rocha Lima, 1916.

## ABSTRACT


Everyone who investigates any question concerning Exanthematic fevers recognizes more and more the lack of a classification that might unify the nomenclature of this group of diseases in the light of an invariable although multiplex criterion thus rendering possible the systematization of the matter and easy its comprehension.

On the one hand, from a purely nomenclatural standpoint it should be preferable in the light of the modern nosographic tendencies that the Exanthematic fevers were all named *Rickettsioses* to emphasize their generic "incitant" or "etiologic factor". On the other hand, the distinction of their specific clinic forms or even of their varieties should be based on the specificity of the different types of natural hosts to and usual vectors of their respective viruses as well as on cross immunity tests, experimental demiologic and zoogeographic features and serologic reactions.

Moreover, the systematization of this chapter should be based on data supplied by the probable natural history and phylogeny of the Exanthematic fevers; therefore, it should not overlook the following possibilities:

1. for the *Rickettsiae*, perhaps originally plant parasites, to have at first infected certain mites which might have carried them to rodents and afterwards to human thus causing, in this probable 1st stage, *Oriental rickettsiosis* or *Tsutsugamushi* as found in Japan, Formosa, Sumatra and probably in Indo-China; 2. for the *Rickettsiae*, upon having been spread by rodents and having parasited certain ticks, to have contributed, in a 2nd stage, towards the appearance of *Tropical rickettsiosis* as found in Malasia, India, Australia and Africa; 3. for the *Rickettsiae*, upon having become confined to certain Ixodids as their usual carriers and to certain rodents as their natural hosts, to have spread, in a 3rd stage, to farther regions of the world following the primitive migrations of the human races, so as to have appeared in North America as *Nearctic spotted fever* under its two well known types, and in South America as *Neotropic spotted fever* represented at present by the so-called "S. Paulo exanthematic typhus"; 4. finally, for the *Rickettsiae*, having perhaps become confined almost exclusively to rodents, to have, in their latest stage, been transmitted by fleas from rodents to humans

thus inciting either the *Intermediate rickettsiosis* (when human infection was but occasional) or the *Endemic rickettsiosis* (when human infection was more frequent) or else the *Wolhynic rickettsiosis* as well as the *Epidemic rickettsiosis* (depending on the exclusiveness of the inter-human transmission).

To every one of these stages there would correspond at present a definite group of clinic forms of Rickettsioses all bearing certain features in common but being distinguishable by the specificity of their natural carrier and by certain other characters as well. Should this assumption prove correct, we would have the following groups and clinic forms of Rickettsioses:

*Group I. Oriental rickettsiosis*

1. Type of Japan — *Rickettsia orientalis* Nagayo et al. 1931.
1 A. Type of Sumatra — *Rickettsia orientalis*, var. *Schüffneri*, var. n..

*Group II. Tropical rickettsiosis*

1. Type of Malay — *Rickettsia megawi*, sp. n..
1 A. Type of Australia — *Rickettsia megawi*, var. *Breinli*, var. n..
1 B. Type of India — *Rickettsia megawi*, var. *Fletcheri*, var. n..
1 C. Type of Africa — *Rickettsia megawi*, var. *Pijperi*, var. n..

*Group III.*

1. "Boutonneuse" rickettsiosis, type of the Mediterranean — *Rickettsia conori* Brumpt, 1932.
2. Nearctic spotted rickettsiosis, type West — *Rickettsia rickettsi* (Wolbach 1919).
3. Nearctic spotted rickettsiosis, type East — *Rickettsia typhi* (Wolbach et Todd, 1920).
4. Neotropic spotted rickettsiosis, type of S. Paulo — *Rickettsia brasiliensis* Monteiro, 1931.

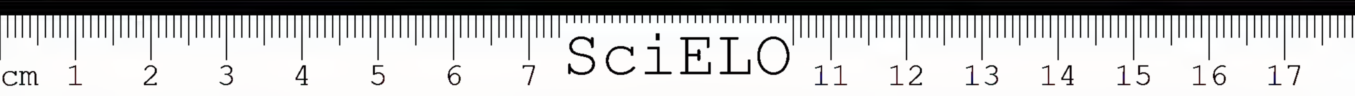
*Group IV.*

1. Intermediate or minor rickettsiosis — *Rickettsia muricola* Monteiro et Fonseca, 1932.
2. Endemic or murin rickettsiosis — *Rickettsia mooseri* Monteiro, 1931.
3. Wolhynic rickettsiosis — *Rickettsia pediculi* Rocha Lima, 1916.
4. Epidemic or major rickettsiosis — *Rickettsia prowazeki* Rocha Lima, 1916.

## BIBLIOGRAPHIA ESPECIAL


1. *Monteiro, J. Lemos* — Mem. Inst. Butantan VI:3-135.1931 (julho 1932).
2. *Monteiro, J. Lemos* — C. R. Soc. Biologie CVII(23):1161.1931; Brasil-Medico XLV(21):468.1931.
3. *Monteiro, J. Lemos* — C. R. Soc. Biologie CVIII(30):521.1931; Brasil-Medico XLV(35):805.1931.
4. *Monteiro, J. Lemos* — Brasil-Medico XLV(47):1096.1931; XLV(48):1109.1931; XLV(49):1140.1931.
5. *Monteiro, J. Lemos* — Brasil-Medico XLV(50):1163.1931.
6. *Monteiro, J. Lemos* — Brasil-Medico XLV(51):1188.1931.
7. *Piza, J. T.; Meyer, J. R. & Gomes, L. S.* — Typho exanthematico de S. Paulo. Soc. Impressora Paulista, S. Paulo, 1932.
8. *Burnet, Et. & Durand, P.* — Bull. Soc. Path. Exotique XXII(2):85-94.1929.
9. *Nicolle, Ch.* — Arch. Inst. Pasteur de Tunis XXI(1):20-24.1932.
10. *Nicolle, Ch. & Laigret, J.* — Arch. Inst. Pasteur de Tunis XXI(2):251-270. 1932.
11. *Jorge, Ricardo* — Bull. Mensuel Off. Internat. Hyg. Publique XXV(2):289-304. out.° 1932 (1933).
12. *Jorge, Ricardo* — Bull. Mensuel Off. Internat. Hyg. Publique XXII(5):908-926.1930
13. *Jewel, N. P. & Cormack, R. P.* — J. Trop. Med. & Hyg. XXXIII(20):301-305.1930 *in* Trop. Dis. Bulletin XXVIII(8):634-635.1931.
14. *Felix, A. & Rhodes, M.* — J. of Hygiene XXXI(2):225-246.1931.
15. *Kraus, R.* — Zeitschr. f. Immunitatsf. LXXIV:353.1932 *in* Bull. Inst. Pasteur XXXI(16):773-774.1933.
16. *Rössle* — *in* Aschoff, F. — Pathologische Anat. 6.ª ed. 1:805. G. Fischer, Jena. 1923.
17. *Siemens, H. W.* — Einführung in die allgemeine Konstitutions-u. Vererbunspathologie. 2ª. ed. Berlim, 1923.
18. *Bauer, J.* — Die konstitutionelle Disposition zu inneren Krankheiten. 3.ª ed. Berlim, 1924.
19. *Oertel, H.* — Outlines of Pathology :479. Renouf, Montreal. 1927.
20. *Lenz, F.* — *in* Bauer, Fischer u. Lenz — Menschliche Erblichkeitslehre: 600. Lehmann Verlag, Mónaco. 1927.
21. *Jennings, H. S.* — The biological basis of human nature: 384. Norton & Co., Nova York. 1930.
22. *Link, G. K. K.* — Quarterly Review of Biology VII(2):143.1932.
23. *Jacot, A. P.* — Amer. Naturalist LXVI(705):346-364.1932.
24. *Fischer, E. & Gäumann* — Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze:428. Jena. 1929.
25. *Kniep, H.* — Zeitschr. f. Pilzkunde. N. F. V:214-247.1926.
26. *Goldschmidt, V.* — Zeitschr. f. Botanik. XXI:1-90.1928.
27. *Wright, S.* — J. Amer. Statist. Assn. :201-208. Suppl. III.1931.
28. *Robson, G. C.* — The species problem — Londres, cit. Jacot. loc. cit. :351.
29. *Winslow, C. E. A.* — J. Bacteriology XXIII(1):26.1932.
30. *Mooser, H.* — Arch. Inst. Pasteur de Tunis XXI(1):1-19.1932.
31. *Nicolle, Ch.* — Arch. Inst. Pasteur de Tunis XXI(1):32-42.1932.
32. *Kodama, M.* — Kitasato Arch. Exper. Med. IX(4):357-361.1932.
33. *Fletcher, W.* — Brit. Med. J. (3755):1140-1141.1932.
34. *Sambon, L.* — Ann. Trop. Med. & Parasit. XXII(1):67.1928.
35. *Fonseca, F. da* — Mem. Inst. Butantan VII:135.1932.



## BIBLIOGRAPHIA GERAL

Nesta lista estão registados apenas os trabalhos mais recentes sobre a materia e, dentre os mais antigos, as revisões fundamentaes. Suas omissões podem ser suppridas pelas referencias encontradas *in* Zbl. f. Bakt. Referate; Trop. Dis. Bull.; Bull. Inst. Pasteur; Biol. Abstracts; Bull Mens. Off. Internat. Hyg. Publique; Quarterly Cumulative Index Medicus; etc.


1. *Alessandrini, A.* — Policlin. Sez Prat. XXXVI:151.1929.

2-3. *Allan, W.* — South. Med. & Surg. LXXXV:65.1923. — Am. J. Path. IV(6):653.1928.

4-6. *Anigstein, L. & Amzel, R.* — C. R. Soc. Biol. XCVI(18):1500,1502.1927. — Zbl. f. Bakt. Orig. CXV(3/4):149.1930.

7. *Aranibar, E. P.* — Rev. Sanidad Militar V(49):4324.1931.

8. *Arkwright, J. A. & Felix, A.* — *in* P. C. Med. Res. Council — "A System of Bacteriology in Relation to Medicine" VII:393.1930.

9. *Armstrong, Ch* — U. S. Publ. Health Rep. XXXVII:685.1922.

10. *Audibert, & Murat* — Marseille Méd. LXVI(36):799.1929.

11. *Babalian, T.* — Bull. Acad. Méd. CVII(20):672.1932.

12-13. *Badger, L. F., Dyer, R. E. & Rumreich, A. S.* — U. S. Publ. Health Rep. XLVI:463,1403.1931.

14. *Balteanu, I. & Alexa, I.* — Zbl. f. die ges. Hyg. XXIII(16):850.1931.

15-16. *Barikin, W., Kompanejez, A., Zacharoff, A. & Barikina, O.* — Zbl. of. Bakt. Orig. CII(6/7:329.1927.; CXII(1/2):25.1929.

17. *Barikin, W., Minervine, S. & Kompanejez, A.* — Arch. Inst. Pasteur Tunis XIX(4):422.1930.

18-19. *Becker, F. E.* — J. Inf. Dis. XXXIX(1):811.1926 — Colo. Med. J. XXVII:87.1930.

20. *Belii, C. M.* — Rinasc. Med. (6):401.1929.

21. *Bergsma, S.* — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. XXIV(3):355.1930.

22-23. *Beros, C. & Balozet, L.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXII(8):712.1929. — Maroc Méd. (92):43.1930.

24-30. *Blanc, C. & Caminopetros, J.* — Bull. Acad. Méd. CV(14,21):620,884.1931. — C. R. Acad. Sc. CXCII(21,23):1504,1682.1931. — Arch. Inst. Pasteur Hellénique II(34):459.1931. — C. R. Acad. Sc. CXCIII(4,8):258,374.1931.

31. *Blatteis, S. R.* — Med. Clin. North America XI:1099.1928.

32. *Boinet, Piéri, J. & Dunan, J.* — Bull. Acad. Méd. C(33):948.1928.

33. *Boinet, & Piéri, J.* — Marseille Méd. LVII(17):798.1930.

34. *Boyd, Hugh* — J. Med. Assn. St. Alabama I:387.1932.

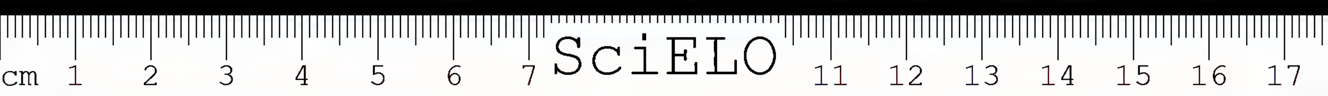
35-36. *Breinl, F.* — Ztschr. f. Immunitaetsf. XLVI(2):123.1926. — J. Inf. Dis. XLII(1):48.1928.

37-45. *Brumpt, E.* — C. R. Acad. Sc. CXCI(19,22):889,1085.1930. — Bull. Acad. Méd. CVII(10,12):356,416.1932. — Presse Méd. XL(28,94):533,1767.1932. — C. R. Soc. Biol. CX(28):1197,1199,1202.1932.

46. *Budakov, L., Romanenko, N. & Tokarewitsch, K.* — J. Microbiol. (Russo) XIII(2/3):213.1931.

47. *Burnet, Et. & Olmer, D.* — C. R. Acad. Sc. CLXXXVII(10):470.1928.



48-49. *Burnet, Et., Durand, P. & Olmer, D.* — C. R. Acad. Sc. CLXXXVII(23,24):1084. 1170.1928.
50. *Burnet, Et. & Durand, P.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXII(2):85.1929.
51. *Caminopetros, J. & Contos, B.* — C. R. Acad. Sc. CXCV(12):546.1932.
52. *Caminopetros, J.* — C. R. Soc. Biol. CX(20):344.1932.
53. *Cantacuzène, J. & Combiesco, D.* — Bull. Off. Int. Hyg. Publ. XXIII(11):1979. 1930.
54. *Casco, R. S.* — Tesis-Fac. Med. Univ. Nac. Auton. Mexico. 1932.
55. *Castaneda, M. R. & Zinsser, H.* — J. Exp. Med. LII(5):661.1930.
56-57. *Castaneda, M. R.* — J. Exp. Med. LII(2):195.1930. — J. Inf. Dis. XLVII(5):416. 1930.
58. *Ceder, E. T., Dyer, R. E., Rumreich, A. S. & Badger, L. F.* — U. S. Publ Health Rep. XLVI:3103.1931.
59. *Chabal, L.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXIV(2):76.1931.
60-62. *Chassevant, A.* — Rev. Prat. Pays Chauds VIII:456.459.470.1928.
63. *Claude, H. & Coste, F.* — Bull. & Mém. Soc. Méd. Hop. Paris XLVII(4):188. 1931.
64. *Coglievina, B.* — Wien. klin. Wschr. XLII:900.1929.
65. *Cogswell, W. F.* — 7th Biennial Rep. Monta. St. Bd. Entom. :69.1929.
66. *Combiesco, D. & Zotta, G.* — C. R. Soc. Biol. CVIII(38):1279.1931.
67-70. *Combiesco, D.* — C. R Soc. Biol. CVIII(38):1281.1282.1931; CIX(9):793.1932. — Arch. Roum. Path. Exp. & Microbiol. V(2):311.1932.
71-72. *Combiesco, D. & Zotta, G.* — C. R. Soc. Biol. CX(28):1222. 1223.1932.
73-75. *Connor, C. L.* — J. Inf. Dis. XXXV(6):587.1924. — J. Med. Res. XLIV(3): 317.1924. — J. Immunology IX(3):269.1924.
76-79. *Conseil, E.* — Bull. Acad. Méd. CI(2):74.1929. — Arch. Inst. Pasteur Tunis XVIII(1):86.1929.; XIX(3):376.1930.—Presse Méd. XXXVIII (34):571.1930
80. *Corinaldesi, S.* — Policlin. Sez. Prat. XXXVIII(34):1229.1931.
81. *Coudray, B.* — Arch. Inst. Pasteur Algérie X(2):159.1932.
82-83. *Cowdry, E. V.* — J. Exp. Med. XXXVII(4):431.1923. — Arch. Path. & Lab. Med. II:59.1926.
84. *De, S. C.* — Ind. Med. Gaz. LXV(4):206.1930.
85-86. *Decourt, P.* — Paris Méd. XIX(15,17):357.400.1929.
87. *Decourt, P. & Sallard,* — Presse Méd. XXXVIII(64):1079.1930.
88-89. *Dove, W. E. & Shelmire, B.* — J. Am. Med. Assn. XCVII(21):1506.1931. — J Parasit. XVIII(3):159.1932.
90. *Driel, B. M. van* — Arch. f. Schiffs. — u. Trop. Hyg. XXXII(7):363.1928.
91-93. *Dubab, J.* — Rev. Med. France & Colonies VI(1.2.3)3.65.117.1929.
94-95. *Durand, P. & Conseil, E.* — C. R. Acad. Sc. CXC(21):1244.1930. — Arch. Inst. Pasteur Tunis XX(1):54.1931.
96-97. *Durand, P. & Laigret, J.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXV(2):106.1932. — C. R. Acad. Sc. CXCIV(9):798.1932.
98-104. *Durand, P.* — Arch. Inst. Pasteur Tunis XX(1):56.1931; XXI(2):239.1932. — C. R. Acad. Sc. CXII(14):857.1931; CXCIV(6.10.20):569.918.1764.1932. — Presse Méd. XL(19):358.1932.
105-106. *Dyer, R. E., Rumreich, A. S. & Badger, L. F.* — J. Am. Med. Assn. XCVII(9): 589.1931. — U. S. Publ. Health Rep. XLVI(7):334.1931.
107. *Dyer, R. E., Badger, L. F. & Rumreich, A. S.* — U. S. Publ. Health Rep. XLVI (24):1403.1931.

108-109. *Dyer, R. E., Ceder, E. T., Rumreich, A. S. & Badger, L. F.* — U. S. Publ. Health Rep. XLVI (32,41) :1869.2415.1931.
110. *Dyer, R. E., Ceder, E. T., Lillie, R. D., Rumreich, A. S. & Badger, L. F.* — U. S. Pub. Health Rep. XLVI (42) :2481.1931.
111. *Dyer, R. E., Ceder, E. T., Rumreich, A. S. & Badger,* L. F. — J. Inf. Dis. LI (1) :137.1932.
112. *Dyer, R. E., Ceder, E. T., Workman, W. G., Rumreich, A. S. & Badger, L. F.* — U. S. Publ. Health Rep. XLVII (3) :131.1932.
113. *Dyer, R. E., Badger, L. F., Ceder, E. T., & Workman, W. G.* — J. Am. Med. Assn. XCIX (10) :795.1932.
114. *Dyer, R. E., Workman, W. G., Ceder, E. T., Badger, L. F. & Rumreich, A. S.* — U. S. Publ. Health Rep. XLVII (18) :987.1932.
115. *Favero, E. Del* — Arch. Ital. Sci. Med. Col. X (12) :590.1929.
116. *Felix, A. & Rhodes, M.* — J. Hyg. XXXI (2) :225.1931.
117. *Felix, A.* — J. Hyg. XXXI (3) :382.1931.
118. *Fialho, A.* — Rev. Med. Cir. Brasil XL (7) :183.1932.
119. *Fisher, L. C.* — Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. XXIX (5) :633.1932.
120-121. *Fletcher, W. & Lesslar, J. E.* — Bull. Inst. Med. Res. Fed. Malay States (2). 1925.; (1,2).1926.
122. *Fletcher, W. & Field, J. W.* — Bull. Inst. Med. Res. Fed. Malay States (1).1927.
123-124. *Fletcher, W., Lesslar, J. E. & Lewthwaite, R.* — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. XXII (2) :161.1928; XXIII (1) :57.1929.
125-126. *Fletcher, W.* — Proc. Roy. Soc. Med. XXIII (7) :1021.1930. — Brit. Med. J. (3755) :1140.1932.
127-128. *Fukuda, Y.* — Zbl. f. Bakt. Orig. CXI (6/8) :408.1929.; CXV (1/2) :83.1930.
129. *Gajdesen, C. S.* — Colo. Med. XXV :46.1929.
130. *Gakh, I.* — Hyg. & Epid., Moscou (11) :31.1929. (Anal. *in* Bull. Off. Int. Hyg. Publ. XXIII (4) :710.1931).
131. *Garnandier, & Frèze* — Rev. Méd. France & Colonies VI (10) :511.1929.
132. *Gater, B. A. R.* — Trans. Far Eastern Assn. Trop. Med. 1930.
133. *George, P.* — Presse Méd. XXXIX (7) :123.1931.
134. *Gheorkhiu, I.* — C. R. Soc. Biol. CIV (16) :223.1930.
135. *Ghose, G.* — Ind. Med. Gaz. LXIII (11) :634.1928.
136. *Glaser, R. W.* — St. Rockef. Inst. Med. Res. LXXIII :465.1931.
137. *Gomes, L. Salles* — Soc. Biol. S. Paulo (8.III.1932) *in* Brasil Medico XLVI (16) :383.1932.
138. *Gray, F. C.* — J. Med. Assn. S. Africa V (24) :814.1931.
139. *Greeley, H. P.* — J. Am. Med. Assn. LXXXIII (19) :1506.1924.
140-142. *Gulino, M.* — Riv. Sanit. Siciliana XVIII (23) :1627, 1633, 1639.1930.
143. *Hach, I.* — Ztschr. f. Hyg. & Infektionskr. CVI (2) :221.1927.
144. *Hach, I. & Lebedinski, P.* — J. Microbiol. IX (3) :422.1929.
145. *Hach, I., Basilevskaja, L., Krol, M. & Leitman, S.* — J. Microbiol. X (2-3) : 160.1930.
146. *Hasle,* — Bull. Soc. Méd. Chirurg. Indochine (2) :95.1931.
147-148. *Hayashi, N.* — J. Parasit. VII (1) :53.1920. — Aichi J. Exp. Med. I :1.1923.
149. *Hertig, H. & Wolbach, S. B.* — J. Med. Res. XLIV :329.1924.
150. *Hindle, E.* — Parasitology XIII (2).1921.
151. *Hinskaja, E.* — Zbl. f. Bakt. Ref. XCVII (1-2) :26.1930.
152-155. *Hoshizaki, S.* — J. Oriental Med. XIII :24.1930. — Kitasato Arch. Exp. Med. IX (2,4) :155.2.4.1932.

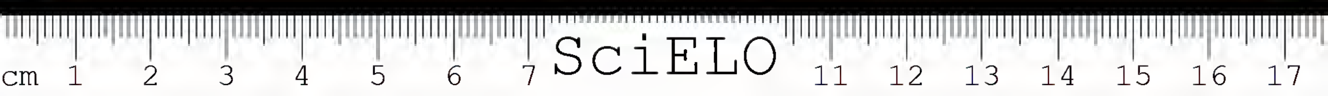




156. *Jacot, A. P.* — Am. Naturalist LXVI(705):346.1932.
157. *Jewel, N. P. & Carmack, R. P.* — J. Trop. Med. & Hyg. XXXIII(20):301.1930.
158. *Jewel, N. P.* — Lancet CCXXI(5649):1269.1931.
159. *Jorge, R.* — Bull. Mens. Off. Int. Hyg. Publ. XXII(5):908.1930.
160-162. *Jayeux, Ch. & Piéri, J.* — C. R. Acad. Sc. CXCII(11):705.1931. — Presse Méd. XL(94):1768.1932. — C. R. Acad. Sc. CXCIV(26):2342.1932.
163. *Kawamura, R. & Imagawa, Y.* — Zbl. f. Bakt. Orig. CXXII(4-5):253.1931.
164. *Keane, F.* — Irish J. Med. Sc. Sept. :515.1930.
165. *Kelley, F. L.* — J. Inf. Dis. XXXII:223.1923.
166. *Kemp, H. A. & Grigsby, C. M.* — Texas J. Med. XXVII:395.1931.
167-168. *Kemp, H. A.* — J. Am. Med. Assn. XCVII(11):775.1931. — Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. XXIX(4):353.1932.
169. *Kerlee, A. L. & Spencer, R. R.* — U. S. Publ. Health Rep. XLIV:179.1929.
170. *King, A. G.* — J. Inf. Dis. XLVI(4):279.1930.
171. *Kingsbury, A. N.* — Ann. Rep. Inst. Med. Res. Fed. Malay States :3.1930.
172. *Kirschner, L. & Knijer, A.* — Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Ind. LXXII(3):153. 1932.
173. *Kligler, I. J. & Olitzki, L.* — Brit. J. Exp. Path. XII(1):69.1931.
174-175. *Kodama, M. & Takahashi, K.* — J. Oriental Med. (13):64.1930. — Zbl. f. Bakt. Orig. CXIX(5/6):311.1931.
176. *Kodama, M., Takahashi, K., Kano, M. & Futaki, Y.* — Kitasato Arch. Exp. Med. IX(1):84.1932.
177. *Kodama, M., Kono, M. & Takahashi, K.* — Kitasato Arch. Exp. Med. IX(2): 91.1932.
178. *Kodama, M., Takahashi, K. & Kana, M.* — Kitasato Arch. Exp. Med. IX(2): 97.1932.
179. *Kodama, M.* — Kitasato Arch. Exp. Med. IX(4):357.1932.
180. *Kohls, G. M.* — 8th Biennial Rep. Monta. St. Bd. Entom. :26.1931.
181. *Koltypin, A. A.* — Jahrb. f. Kinderheilk. CXXIII:27.1929.
182. *Kraus, R. & Castillo, J.* — Rev. Inst. Bact. Chile I(4):59.1930.
183. *Kraus, R., Avilés, L. & Castillo, R.* — Rev. Inst. Bact. Chile II(1):37.1931.
184-185. *Kraus, R.* — Rev. Inst. Bact. Chile II(4):57.1931. — Ztschr. f. Immunitaetsf. LXXIV:353.1932.
186. *Kritschewski, I. L. & Rubinstein, P. L.* — Ztschr. f. Immunitaetsf. LXVI(5/6) :420.1929.
187. *Kritschewski, I. L. & Heronimus, E. S.* — Ztschr. f. Immunitaetsf. LXVII(5/6) :507.1930.
188-189. *Kuczynski, M. H. & Brandt, E.* — Krankheitsforschung II:70.1925.; III(1).1926.
190. *Kuczynski*, M. H. — Biol. & Path. Studies, J. Springer, Berlin. 1927.
191. *Kundu*, M. L. — Ind. Med. Gaz. LXVII(7):390.1932.
192. *Kuyer*, A. — Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Indië LXXI(2):182.1931.
193. *Labernadie*, V. — Bull. Soc. Path. Exot. XXV(1):7.1932.
194. *Leitman, S.* — J. Microbiol. X:253.1930.
195. *Lemaire*, G. — Presse Méd XXXVIII(105):1801.1930.
196. *Lépine, P. & Caminopetros*, J. — C. R. Acad. Sc. CXCIV(15):1277.1932.
197. *Lépine, P., Caminopetros, J. & Pangalos, G.* — C. R. Soc. Biol. CIX(9):710.1932.
198-203. *Lépine*, P. — Bull. Acad. Méd. CVII(14):495.1932. — C. R. Acad. Sc. CXCIV (4):401.1932. CXCV(2):188.1932. — C. R. Soc. Biol. CIX(12,14):1072. 1244.1932.; CXI(40):1931.1932.

204. *Lewthwaite, R.* — Bull. Inst. Med. Res. Fed. Malay States (1):42.1930.
205. *Lillie, R. D.* — U. S. Publ. Health Rep. XLVI(48):2840.1931.
206. *Lim, C. E. & Kurotchkin, T. J.* — Nat. Med. J. China XV:6.1929.
207. *Lima, H. da Rocha* — in Kolle, Kraus & Uhlenhuth — Handb. d. pathog. Mikroorganismen VIII:1347. G. Fischer, Jena. 1930.
208. *Lindberg, K.* — Rev. Méd. & Hyg. Trop. (3):137.1931.
209. *Longo, D.* — Reform. Med. XLV(26):889.1929.
210. *Lupu, N. G. & Petrescu, M.* — Bull. Soc. Méd. Hop. Bucarest IX:220.1929.
211. *Lutrario, A.* — Bull. Mens. Off. Int. Hyg. Publ. XXIII(8):1403.1931.
212. *Marcandier, M. & Bideau* — Rev. Hyg. LII(5):353.1930.
213-214. *Marcandier, M. & Pirot, R.* — C. R. Acad. Sc. CXCIV(4,19):399,1693.1932.
215. *Marçon, L. & Marçan, M.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXIII(9):889.1930.
216. *Marçan, L. & Audaye* — Bull. Soc. Path. Exot. XXV(5):390.1932.
217. *Maxcy, K. F. & Havens, L. C.* — Am. J. Trop. Med. III:495.1923.
218-221. *Maxcy, K. F.* — U. S. Publ. Health Rep. XLI:1213,2967.1926.; XLIII:3084.1928.; XLIV:1935.1929.
222. *Mazet, M.* — Marseille Méd. LXVII(24):287.1930.
223. *Medulla, C.* — Riforma Med. XLVI(19):721.1930.
224. *Megaw, J. W. D. & Rao, S. S.* — Ind. Med. Gaz. LXIII(6):306.1928.
225. *Megaw, J. W. D.* — Bull. Mens. Off. Int. Hyg. Publ. XXXIII(8):1527.1930.
226. *Melnotte, P. & Grimaud, L.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXI(4):305.1928.
227-228. *Mesnard, J.* — C. R. Soc. Biol. XCVI(14):1135.1928. — Arch. Inst. Pasteur Indochine (7):3.1928.
229-241. *Monteiro, J. Lemos* — Brasil Medico XLV(22):468.1931. — Com. Soc. Biol. S. Paulo (8.VIII.1931) in Brasil Medico XLV(35):805.1931. — C. R. Soc. Biol. CVII(23):1161.1931.; CVIII(30):521.1931. — Brasil Medico XLV(47,48,49,50,51):1096, 1109, 1140, 1163, 1188. 1931. — Mem. Inst. Butantan, VI:3.1931 (1932). — Brasil Medico XLVI(16,17):361,385.1932. — C. R. Soc. Biol. CX(24):858.1932.
242-245. *Monteiro, J. Lemos, Fonseca, F. da & Prado, A.* — Brasil Medico XLVI(3,8,9): 49,169,193.1932; Mem. Inst. Butantan VI:137.1931 (1932).
246-249. *Monteiro, J. Lemos & Fonseca, F. da* — Brasil Medico XLVI(48,50):993,1029. 1932; — Mem. Inst. Butantan VII:35,41.1932.
250-254. *Mooser, H.* — J. Inf. Dis. XLIII(3):241,261.1928.; XLIV(3):186.1929. — Rev. Mexicana Biol. IX:57.1929. — J. Exp. Med. LI(2):189.1930.
255. *Mooser, H. & Dummer, C.* — J. Inf. Dis. XLVI(2):170.1930.
256-257. *Mooser, H., Castaneda, M. R. & Zinsser, H.* — J. Exp. Med. LIV(4):567.1931. — J. Am. Med. Assn. XCVII(4):231.1931.
258-260. *Mooser, H.* — Arch. f. Schiffs-u. Trop. - Hyg. XXXII(5):805.1931. — Gac. Med. Mexico LXIII(4):185.1932. — Arch. Inst. Pasteur Tunis XXI(1): 1.1932.
261. *Mooser, H. & Castaneda, M. R.* — J. Exp. Med. LV(2):307.1932.
262. *Moriwaki, G.* — China Med. J. XLII:816.1928.
263. *Moroskin, N.* — Vratchebnaia Gazeta (2).1929 in Zbl. f. Bakt. Ref. XCVII(1-2): 26.1930.
264. *Mukerji, D. M.* — Ind. Med. Gaz. LXVII(2):86.1932.
265-267. *Nagayo, M., Tamiya, T., Mitamura, T. & Sato, K.* — C. R. Soc. Biol. CIV(21): 637.1930. — Jap. J. Exp. Med. VIII(4):319.1930. — Bull. Mens. Off. Int. Hyg. Publ. XXIII(8):1411.1931.





268-270. *Nagayo, M., Tamiya, T., Mitamura, T. & Hazato, H.* — Jap. J. Exp. Med. VIII(4) :319.1930. — C. R. Soc. Biol. CIV:641.1930. — Bull. Mens. Off. Int. Hyg. Publ. XXIII(8) :1415.1931.

271. *Nagayo, M., Miyagawa, Y., Mitamura, T., Tamiya, T., Sato, K. & Hazato, H. & Inamura, A.* — Jap. J. Exp. Med. IX(2) :87.1931.

272-278. *Netter, A.* — Bull. Acad. Méd. XCVIII(29) :71.1927.; CV(25) :1017.1931. — Presse Méd. XL(9.14.28) :161.263.533.1932. — Bull. Acad. Méd. CVII(6.12) :156.408.1932.

279-283. *Nicolle, Ch.* — Arch. Inst. Pasteur Afr. du Nord I(4) :433.1921; Arch. Inst. Pasteur Tunis XVIII(3-4) :255.1929; XX(3) :324.1931; XXI(1) :32.1932; Bull. Acad. Med. CVII(9) :292.1932.

284-285. Nicolle, Ch. & Conseil, E. — C. R. Acad. Sc. CLXXXI(5) :201.1925. — Arch. Inst. Pasteur Tunis XIV(4) :355.1925.

286. *Nicolle, Ch., Sparrow, H. & Conseil, E.* — Arch. Inst. Pasteur Tunis XVI(1) :1. 1927.

287-288. *Nicolle, Ch. & Sparrow, H.* — Bull. Inst. Pasteur XXIX(20) :945.1931. — Presse Méd. XL(8) :137.1932.

289. *Nicolle, Ch., Laigret, J., Marcandier, M. & Pirot, R.* — Presse Méd. XL(48) : 957.1932.

290-291. *Nicolle, Ch. & Laigret, J.* — Arch. Inst. Pasteur Tunis XXI(2) :251.271.1932.

292-293. *Nigg, C. & Landsteiner, K.* — J. Exp. Med. LV(4) :363.1932. — Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. XXIX(9) :1291.1932.

294-297. *O'Donnell, F. J.* — Biennial Rep. Monta. St. Bd. Entom. 6th, 7th, 8th, 9th. :4.70. 40.7.1926.1928. 1930. 1932.

298. *Ogata, N.* — Zbl. f. Bakt. Orig. CXXII(4-5) :249.1931.

299-301 *Olmer, D.* — Bull. Acad. Méd. C(34) :996.1928. — Bull. Mens. Off. Int. Hyg. Publ. XXII(8) :1494.1930. — Bull. Mém. Soc. Méd. Hop. Paris XLVII(4) : 167.1931.

302. *Olmer, D. & Olmer, J.* — Bull. Acad. Méd. CVI(36) :348.1931.

303. *Otto, R.* — Zbl. f. Bakt. Orig. CXVI(4/5) 265.1930.

304-305. *Pai, M. N.* — Ind. Med. Gaz. LXIII(12) :704.1928.; LXVI(4) :200.1931.

306. *Palacios, R. & Armijo, E.* — Rev. Inst. Bact. Chile II(3) :33.1931.

307. *Palacios, R.* — Rev. Inst. Bact. Chile II(3) :51.1931.

308-309. *Panayotatou, A.* — C. R. Soc. Biol. CXI(33.34) :430.496.1932.

310. *Parker, R. R.* — Am. J. Trop. Med. III(1) :39.1923.

311-312. *Parker, R. R. & Spencer, R. R.* — U. S. Publ. Health Rep. XLI(11) :461.1926.— 6th Biennial Rep. Monta. St. Bd. Entom. :19.1927.

313-316. *Parker, R. R.* — Bull. Nevada St. Bd. Health (9) :3.1929. — 7th Biennial Rep. Monta. St. Bd. Entom. :39.63.68.1929.

317. *Parker, R. R. & Spencer, R. R.* — U. S. Publ. Health Serv. Hyg. Lab. Bull. (154) : 72.1930.

318. *Parker, R. R.* — 8th Biennial Rep. Monta. St. Bd. Entom. :35.1931.

319. *Pecori, G.* — Ann. d'Igiene XXXIX :1.1929.

320. *Fedaros, D., Garagianopoulos, G. & Valsamaki, A.* — Arch. Inst. Pasteur Hellénique II(3-4) :460.1931.

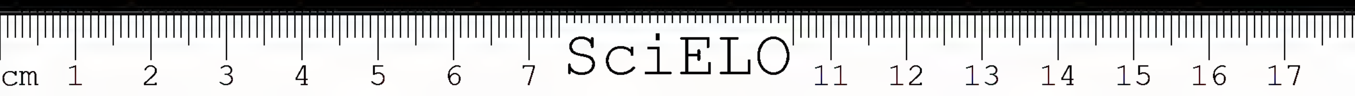
321. *Penfold, W. J. & Corkill, A. B.* — Med. J. Australia II(10) :304.1928.

322. *Petzetakis* — Bull. Mém. Soc. Méd. Hop. Paris XLVIII(9) :356.1932.

323-324. *Peverelli, P.* — Zbl. f. die ges. Hyg. XXIII(6.9-10) :339. .1930.

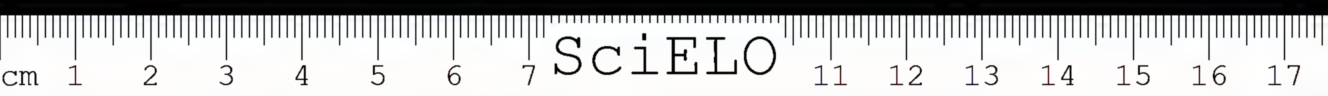
325. *Piéri, J. — Mosinger, M.* — Presse Méd. XL(94) :1768.1932.





326-328. *Pijper, A. & Dau, H.* — J. Trop. Med. & Hyg. XXXIII(7):93.1930; Brit. J. Exp. Path. XI(5):287.1930.; XII(3):123.1931.
329. *Pijper, A.* — J. Med. Assn. S. Africa V(16):519.1931.
330. *Pijper, A. & Dau, H.* — Brit. J. Exp. Path. XIII(1):33.1932.
331-332. *Pinkerton, H.* — J. Exp. Med. LIV(2):181.187.1931.
333. *Pinkerton, H., & Marcy, K. F.* — Am. J. Path. VII(2):95.1931.
334-337. *Pinkerton, H. & Hass, G. M.* — J. Exp. Med. LIV(3):307.1931.; LVI(1):131.145. 151.1932.
338. *Pirgialis, A.* — Arch. Inst. Pasteur Hellénique II(3-4):461.1931.
339. *Piza, J., Gomes, F. Salles, Gomes, L. Salles, Meyer, J., Fleury, J. P., Castro, O., Rodrigues, C. & Lima, H. da Rocha* — C. R. Soc. Biol. CVI:1020.1931.
340. *Piza, J. T., Meyer, J. R. & Gomes, L. Salles* — Typho exanthematico de S. Paulo — Soc. Impressora Paulista, S. Paulo, 1932.
341. *Piza, J. T.* — Bol. Soc. Med. & Cir. S. Paulo XV(12):530.1932.
342. *Plazy, L., Marcondier, A. & Marçon, L.* — Bull. Acad. Méd. C(44):1450.1928.
343. *Plazy, L. & Marcandier, A.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXIII(6):560.1930.
344. *Plazy, M., Marcondier, A., Germain & Pirot, R.* — Bull. Acad. Méd. CVI(27):51. 1931.
345. *Plazy, L., Germain & Plazy, M.* — Bull. Acad. Méd. CVII(6):205.1932. — Presse Méd. XL(14):263.1932.
346-348. *Plazy, L. & Germain* — Bull. Acad. Méd. CVII(5):152.1932. — Presse Méd. XL(12.94):723.1768.1932.
349-350. *Plotz, H.* — C. R. Soc. Biol. XCIX:1319.1928.; CIII(14):1204.1930.
351. *Quérangal, J. E. & Prade, J.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXV(2):109.1932.
352. *Querangal, J. E.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXV(4):283.1932.
353. *Radford, M. & Rolleston, J. D.* — Lancet CCXIX(II):18.1930.
354. *Romsine, S.* — Arch. Inst. Pasteur Tunis XVIII(3-4):247.1929.
355. *Rao, S. S.* — Ind. Med. Gaz. XLIV(2):76.1929.
356-357. *Roybaud, A.* — Marseille Méd. LXVI(36):792.1929.; LXVII(16):732.1930.
358. *Roynal, J.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXV(1):49.1932.
359. *Reimann, H. A. & Sia, R. H. P.* — Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. XXVI(4): 267.1929.
360. *Reimann, H. A.* — J. Immunology XVIII(2):153.1930.
361. *Reimann, H. A., Ulrich, H. L. & Fisher, L. C.* — J. Am. Med. Assn. XCVIII(22): 1875.1932.
362. *Reitano, U. & Boncinelli, U.* — Boll. Sez. Ital. IV(10):261.1932.
363. *Remlinger, P.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXI(4):302.1928.
364. *Risquez, F. A.* — Cronica Med. - Quir. Habana LV(4):196.1929.
365. *Rochain, A., Sedallian, P. & Couture, E.* — C. R. Soc. Biol. CXI(38):817.1932.
366. *Ross, G. K.* — S. African Med. J. VI(14):453.1932.
367-368. *Rontchkowsky* — Hyg. & Epidem. Moscou. (2.4-5):29.45.1930.
369. *Rumreich, A., Dyer, R. E. & Badger, L. F.* — U. S. Public Health Rep. XLVI (9):470.1931.
370. *Salvioli, G.* — Boll. Inst. Sieroterap. Milanese III(1):43.1923.
371. *Sampietro, G.* — Annali d'Igiene XL(12):898.1930.
372-373. *Sato, K.* — Trans. Jap. Path. Soc. XXI:466.1931. — Dtsch. med. Wschr. LVII (21):892.1931.
374. *Schneider, L.* — Ann .Int. Med. (3):1263.1930.
375. *Scott, H.* — Bull. Mens. Off. Int. Hyg. Publ. XXII(8):1522.1930.



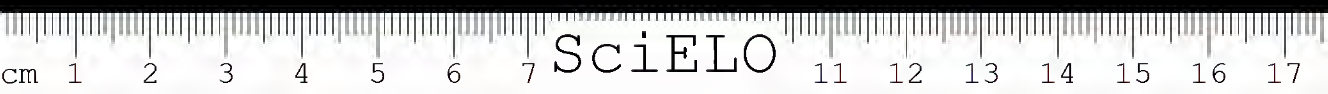


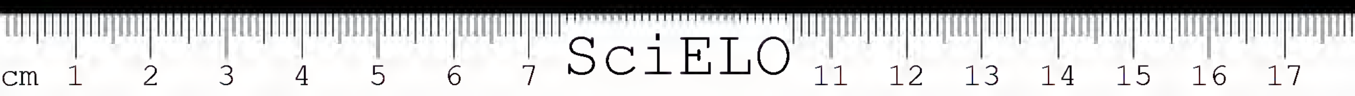
376. *Scroggie, F. H.* — J. Med. Assn. S. Africa V(24) :809.1931.
377. *Ségal, J.* — Presse Méd. XL(47) :926.1932.
378. *Selivanoff, E.* — C. R. Soc. Biol. XCIII(27) :664.1925.
379. *Sellards, A. W.* — Am. J. Trop. Med. III :529.1923.
380. *Sergent, Ed., Foley, H. & Vialette, Ch.* — Arch. Inst. Pasteur Afr. du Nord I(3) :218.1921.
381. *Shelmire, B. & Dove, W. E.* — J. Am. Med. Assn. XCVI(8) :579.1931.
382. *Sinclair, C. G. & Maxcy, K. F.* — U. S. Publ. Health Rep. XL:241.1925.
383. *Sonnenschein, C.* — Ztschr. i. Immunitaetsf. LXIX(5/6) :449.1931.
384. *Souchard, L., Marneffe, H. & Lieuou* — Bull. Soc. Path. Exot. XXIV(8) :678. 1931.
385-386. *Sparrow, H.* — Arch. Inst. Pasteur Tunis XVI(1) :33.1927; XVIII(1) :1.1929.
387. *Spencer, R. R.* — Monta. St. Bd. Health Spec. Bull. (26) :40.1923.
388-391. *Spencer, R. R. & Parker, R. R.* — U. S. Publ. Health Rep. XXXVIII(8): 333.1923.; XXXIX(52) :3251.1924.; XL(41) :2159.1925.; XLI(35) :1817. 1926.
392-393. *Spencer, R. R.* — J. Bact. XIII :42.1927. — J. Inf. Dis. XLIV(4) :257.1929.
394. *Spencer, R. R. & Maxcy, K. F.* — U. S. Publ. Health Rep. XLV :440.1930.
395-397. *Spencer, R. R. & Parker, R. R.* — U. S. Publ. Health Serv. Hyg. Lab. Bull. (154) :49. 60. 63.1930.
398. *Steenis, P. B. van* — Geneesk. — Tijdschr. v. Nederl. Indië LXIX(6) :572.1929.
399. *Storey, H. H.* — 2e Congr. Path. Comparée (Paris) II :470.1931.
400. *Strickland, C.* — Far East. Assn. Trop. Med. Trans. 7th. Congr. II :517.1927.
401-402. *Strong, R. P.* — Int. J. Publ. Health I :7.188.1920.
403. *Syssine, A.* — Bull. Mens. Off. Int. Hyg. Publ. XXII :1306.1930.
404. *Takahashi, K. & Hoschisaki, S.* — J. Oriental Med. XIII.1930.
405. *Takahashi, K. & Nagata, S.* — J. Oriental Med. XIV :28.1931.
406. *Tanaka, K., Kaiwa, J., Teramura, S. & Kagaya, J.* — Zbl. f. Bakt. Orig. CXVI (6/8) :353.1930.
407. *Tapelson, S. L.* — Hyg. & Epidem., Moscou. (4-5) :32.1930.
408. *Toomey, N.* — Ann. Int. Med. (5) :1296.1932.
409. *Toullec, F.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXIII(2) :152.1930.
410. *Trabaud, J.* — Bull. Acad. Méd. CL(15) :528.1929.
411. *Tricoire, R.* — C. R. Soc. Biol. CIV(24) :983.1930.
412. *Troisier, J. & Cattan, R.* — C. R. Acad. Sc. CXCIII(1) :91.1931.
413. *Trout, J. McDonald & Pijper, A.* — Lancet CCXXI(5648) :1183-1931.
414. *Trowell, H. C.* — Kenya & East African Med. J. (5) :142.1931.
415. *Turner Jr., W. H.* — China Med. J. XLV(2) :148.1931.
416. *Varela, G.* — Gac. Med. Mexico LXIII(2) :82.1932.
417. *Védrenno, M.* — Bull. & Mém. Soc. Méd. Hop. Paris XLVI(33) :1747.1930.
418. *Vielle, E. & Souchard, L.* — Bull. Soc. Path. Exot. XXIV(4) :302.1931.
419. *Walker, E. L. & Sweeney, M. A.* — Am. J. Trop. Med. XII(3) :217.1932.
420-421. *Weigl, R.* — Bull. Acad. Polon. Sc. & Lettres :1-24.1930. *in* Bull. Inst. Pasteur XXX(13) :651.1932. — C. R. Soc. Biol. CIII(10) :823.1930.
422. *Williams, E. G.* — Virginia Med. Month. LVII :183.1930.
423. *Wilson, C. J.* — Ann. Rep. Med. Dept. Fed. Malay States :13.1930.
424. *Winteler, L.* — Schweiz. med. Wschr. LX(13) :1172.1930.
425. *Wolbach, S. B. & Todd, J. L.* — Ann. Inst. Pasteur XXXIV(3) :153.1920.
426. *Wolbach, S. B.* — J. Am. Med. Assn. LXXXIV(10) :723.1925.

427. *Wolff, J. W.* — J. Hygiene XXXI(3):352.1925.
428. *Zinsser, H. & Batchelder, A. P.* — J. Exp. Med. LI(6):847.1930.
429-430. *Zinsser, H. & Castaneda, M. R.* — J. Exp. Med. LII(5,6):649,865.1930.
431-432. *Zinsser, H., Castaneda, M. R. & Seastone, C. V. Jr.* — J. Exp. Med. LIII(3): 325,333.1931.
433-436. *Zinsser, H. & Castaneda, M. R.* — J. Exp. Med. LIII(4):493.1931.; LIV(1):11.1931. — J. Immunology XXI(5):403.1931. — Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. XXIX(7):840.1932.
437. *Zozaya, J.* — J. Inf. Dis. XLVI(1):18.1930.
438-443. *Edit.* — Rapp. Épid. Mens. Soc. Nations VIII(12):475.1929.; IX(12):481.1930.; X(12):469.1931.; XI(11-12):271.1932. — J. Amer. Med. XCVI(14): 1146.1931. — Science LXXIII(1886):10.1931.

**(Trabalho das secções de Virus e de Zoologia Medica do Instituto Butantan, dezembro de 1932).**






cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17




Empreza Graphica da
REVISTA DOS TRIBUNAES
Rua Xavier de Toledo, 72
São Paulo - Brasil